

Das Verhalten der NADPH- und NADH- abhängigen Glutathionsreduktaseaktivität im Serum während der Strahlenbehandlung des carcinoma colli uteri

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Klaus Pieper
aus Stettin

Mainz 1966



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554812_0047

Aus der Universitäts-Frauenklinik der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Kommissarischer Leiter Prof. Dr. G. Stark

Das Verhalten der NADPH- und NADH- abhängigen Glutathionsreduktaseaktivität im Serum während der Strahlenbehandlung des carcinoma colli uteri

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Klaus Pieper
aus Stettin

Mainz 1966

Dekan: Prof. Dr. Borneff

Korreferent: Prof. Dr. Thomsen

Referent: Privatdozent Dr. G. H. Rathgen



Die vorliegenden Experimente wurden in der Zeit vom 1.6.1963 bis 1.10.1964 an der Frauenuniversitätsklinik Mainz unter Leitung des damaligen Direktors Prof. Dr. K. Thomsen durchgeführt.

INHALTSANGABE

I EINLEITUNG

Überblick über die Entwicklung und Bedeutung der Glutathionreduktase

II METHODIK

- 1) Abkürzungen
- 2) Messung der Glutathionreduktaseaktivität

NADPH-abhängige Reaktion

- 1) Optimale Meßbedingungen
- 2) Herstellung der Lösungen
- 3) Reagentien
- 4) Haltbarkeit der Lösungen
- 5) Arbeitsweise
- 6) Vorgehen

NADH-abhängige Reaktion

- 1) Optimale Meßbedingungen
- 2) Reagentien
- 3) Herstellung der Lösungen
- 4) Arbeitsweise
- 5) Berechnung
- 6) Material
- 7) Vorgehen

III ERGEBNISSE

Beschreibung des angewandten statistischen Testes

IV DISKUSSION

- 1) Normalwerte
- 2) Die Bedeutung der Glutathionreduktase in der Biochemie
- 3) Ergebnisse der NADPH und NADH spezifischen Glutathionreduktaseaktivität bei unbehandelten Karzinomen

- 4) Die Bedeutung der Glutathionreduktase in der klinischen Medizin
- 5) Verlauf der Glutathionreduktaseaktivität während der Strahlenbehandlung
- 6) Allgemeine Strahlenwirkung
- 7) Wirkung ionisierender Strahlen auf die Grundstrukturen der Zellen
- 8) Wirkung ionisierender Strahlen auf den Zellstoffwechsel
- 9) Strahlenwirkung auf den Kohlenhydratstoffwechsel
- 10) Strahlenwirkung auf das Glutathion

V ZUSAMMENFASSUNG

VI ANHANG

- A Abbildung 1 - 15 (NADPH- und NADH-abhängige Glutathionreduktaseaktivität nach der 1., 3., 5., 10., 15. und 20. Bestrahlung)
- B Daten der untersuchten Patientinnen
- C Statistischer Test (12)
- D Literaturangaben
- E Lebenslauf

Einleitung

Im Jahre 1937 gelang KOHMAN und SANDBORN (46) der Nachweis, daß pflanzliche Gewebe in der Lage sind, oxydiertes Glutathion zu reduzieren. GANAPATHY (27) machte 1938 die Feststellung, daß Verbindungen, welche eine SS-Gruppe enthalten, durch Pflanzensaft reduziert werden. 1943 gaben HOPKINS und MORGAN (35) Wasser zu trockenem Erbsensamen und stellten fest, daß vier Stunden später ein Maximum an SH-haltigen Verbindungen nachweisbar war. Aus diesem Material gelang es ihnen dann, reduziertes Glutathion zu isolieren. Weiterhin konnten sie zeigen, daß oxydiertes Glutathion sehr schnell reduziert wurde, wenn man es mit trockenem Erbsensamen, der in Phosphatpuffer suspendiert wurde, zusammenbringt. 1932 berichtete MANN (61), daß oxydiertes Glutathion von einer Mischung bestehend aus Glucose, einem hitzelabilen Protein aus der Leber, welches Glucose oxydieren kann, und aus einem Co-Faktor, den er aus einem gekochten Leberextrakt durch Ausfällung mit Äthanol gewann, reduziert wird. MELDRUM und TARR (67) fanden 1935 ein Enzym im Blutserum, das in Anwesenheit von Hexose-Phosphat oxydiertes Glutathion reduzieren kann. 1938 berichteten ENGELHARDT und BARKASH (21), daß die oxydative Decarboxylierung von Phosphor-Glukonsäure mit der Reduktion von oxydiertem Glutathion verbunden ist, wenn man diese Substanzen unter anaeroben Bedingungen mit Pflanzensaft incubiert. MAPSON, GODDARD (63) und CONN, VENNESLAND (14) gelang 1952 die Isolierung des Enzyms, das für die Reduktion von oxydiertem Glutathion verantwortlich ist.

Folgende Reaktion wird von diesem Enzym katalysiert:



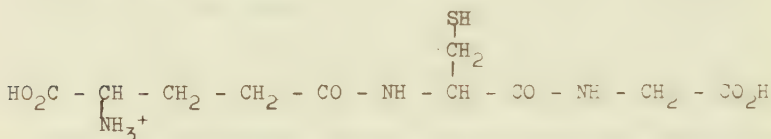
Das pH-Optimum liegt für das aus Erbsen gewonnene Enzym zwischen 6,9 und 7,2. Die Reaktion verläuft dabei nur in Richtung von GSSG zu GSH und nicht umgekehrt,

weil das Gleichgewicht sehr weit zu Gunsten der rechten Seite verschoben ist. RALL und LEHNINGER (74) konnten in einer Mischung von GSH und NADP mit Glutathionreduktase aus der Leber keine Bildung von NADPH nachweisen. MAPSON und Mitarbeiter (64) stellten weiterhin fest, daß das aus Erbsen gewonnene Ferment für NADPH spezifisch ist und keine Reaktion mit NADH zeigt. Dagegen konnten 1952 KRIMSKY und RACKER (48) aus Lebergewebe ein Enzym isolieren, welches mit NADPH und NADH reagiert. Auch HORN und BRUNS (38) untersuchten in ihrer Arbeit "NADH- und NADPH-abhängige Glutathionreduktase im Serum des Menschen" diese Frage. Sie konnten nicht klären, ob zwei verschiedene Enzymproteine mit absoluter Spezifität gegenüber NADPH bzw. NADH im Serum vorkommen oder ob NADPH und NADH GSSG wechselweise am Enzym zu reduzieren vermögen. Sie sind der Ansicht, daß sich diese Frage auf Grund der relativ geringen Aktivität im Serum und des hohen Überschusses an Begleitprotein kaum klären lassen wird.

Weiterhin beobachteten sie eine auffällig starke Hemmung der NADH-abhängigen Reaktionen durch Heparin. Diese Hemmung ist stark pH-abhängig und nur beim pH-Optimum und auf dem sauren Schenkel der pH-Aktivitätskurve sichtbar. Außer Heparin wird die Glutathionreduktase, wie YOUNG und CONN (93) 1954 zeigen konnten, durch eine Reihe von Substanzen gehemmt, so zum Beispiel durch Jodessigsäure, PCMB, Metallionen wie Cu^{2+} , Pb^{2+} und Cd^{2+} .

Das Enzym fand man in fast allen tierischen Geweben. Außerdem kommt es in einigen Pflanzen vor und wird hier in Wurzeln, Früchten, Blättern und Samen nachgewiesen. Über die Verteilung und Lokalisation des Enzyms Glutathionreduktase wurden eine große Anzahl von Untersuchungen angestellt. So fanden 1952 RALL und LEHNINGER (74), daß das Enzym im löslichen Teil des Cytoplasmas der Leber vorkommt. Neuere Untersuchungen wie die von YOUNG, CONN 1956 (93) und MAPSON, MUSTAFA 1956 (64) ergaben, daß die Glutathionreduktase auch in den Mitochondrien und im Zellkern vorkommt.

Das Substrat der Glutathionreduktase, das Glutathion wurde 1888 von DE REY PAILHADE (82) zum ersten Male aus Hefe isoliert. 1925 klärten PIRIE und PINHEY (70) die Struktur des Glutathions auf. Sie stellten fest, daß Glutathion ein Tripeptid ist und zwar ein Glutamylcysteinyglycin.



Glutathion kommt in allen lebenden Zellen vor. Einige Beispiele dafür bringt die nächste Tabelle.

Glutathion Konzentrationen in verschiedenen Geweben

(E. M. Crook)

Material	GSH (mg./100 g.)
Ratte	
Blutplasma	0
Gesamtblut	60
Leber	175, 177, 164
Milz	76, 118
Herz	67, 64
Muskel	26
Gehirn	32
Hefe	128
Kartoffel	10,8
eingeweichte Erbsen	50 - 70

Die Bedeutung des Glutathions liegt einmal in seiner Funktion als Redox-System, zum Anderen aber auch darin, daß es auf Grund seiner speziellen Eigenschaften in die verschiedensten biochemischen Systeme eingreifen kann.

So schützt GSH beispielsweise das Pankreas vor dem diabetogenen Effekt des Alloxans. Weiterhin bewahrt es die Erythrocyten vor Oxydationsschaden. In der Leber spielt es eine wichtige Rolle

bei der Entgiftung einer Reihe von Substanzen unter Bildung von Mercaptursäure. Glutathion schützt auch Sulfhydryl - Gruppen enthaltende Enzyme vor der Strahlenwirkung. Diese würden normalerweise unter der Strahlenwirkung zerstört werden. Ist aber reduziertes Glutathion vorhanden, tritt diese Inaktivierung nicht ein.

Es ergibt sich hiermit, daß sowohl dem oxydierten als auch dem reduzierten Glutathion eine recht bedeutende Stellung im Gesamtstoffwechsel der Zelle zukommt. Dies war es auch, was uns veranlaßte, Untersuchungen über die Glutathionreduktaseaktivität während der Strahlenbehandlung anzustellen.

A b k ü r z u n g e n

E D T A	=	Athylendiamintetraacetat
D P N-H	=	Reduziertes Diphosphorpyridinnucleotid oder nach der neuen Nomenklatur
N A D H	=	Nikotin - Adenin - Dinukleotid (redz.)
D P N	=	Oxydiertes Diphosphorpyridinnucleotid oder nach der neuen Nomenklatur
N A D	=	Nikotin - Adenin - Dinukleotid (oxyd.)
G O T	=	Glutamatoxalacetattransaminase
G P T	=	Glutamatpyruvattransaminase
G S H	=	Reduziertes Glutathion
G S S G	=	Oxydiertes Glutathion
L D H	=	Lactatdehydrogenase
T P N-H	=	Reduziertes Triphosphorpyridinnucleotid oder nach der neuen Nomenklatur
N A D P H	=	Nikotinamid - Adenin - Dinukleotidphosphat (reduz. Form)
T P N	=	Oxydiertes Triphosphorpyridinnucleotid oder nach der neuen Nomenklatur
N A D P	=	Nikotinamid - Adenin - Dinukleotidphosphat (oxyd. Form)
D N S	=	Desoxyribonukleinsäure

M e t h o d i k

NADPH - spezifische Glutathionreduktase

Nach HORN und BRUNS (38) liegt im menschlichen Serum das pH-Optimum in Phosphatpuffer und Tris-Maleinatpuffer bei 6,4 und 6,7. Weiterhin geben diese Autoren an, daß bei pH- = 6,5 das Enzym mit 10^{-3} M GSSG und $4 \cdot 10^{-4}$ NADPH gesättigt ist. Die Michaeliskonstanten sind bei Sättigung mit GSSG $K_{\text{NADPH}} = 2,5 \cdot 10^{-5}$ M, bei NADPH Sättigung $K_{\text{GSSG}} = 7 \cdot 10^{-5}$ M.

Von den hier angeführten Daten wurden die pH Abhängigkeit und die Abhängigkeit von der Substratkonzentration nachgeprüft. Wie aus der Abbildung Nr. 16 zu ersehen, stimmen die von den Autoren angegebenen Daten für die pH Abhängigkeit mit unseren eigenen Ergebnissen überein.

pH Abhängigkeit der Serum-
Glutathion-Reduktase des Menschen

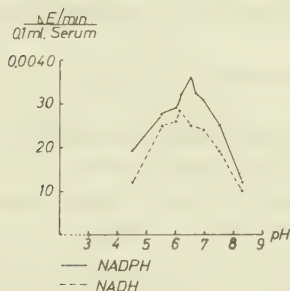


Abb. 16

Testansätze im Serum werden wie folgt durchgeführt.

Notwendige Reagentien:

1. Kaliumdihydrogenphosphat, KH_2PO_4
2. Dinatriumhydrogenphosphat, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
3. Trilon, 10 %
4. NADPH
5. Oxydiertes Glutathion (GSSG)
6. Natronlauge, 1 N

Herstellung der Lösungen:

1. Phosphatpuffer nach SØRENSEN, 0,067 m (= w/15 pH 6,5
Stammlösungen: a) 9,078 g KH_2HPO_4 p.a./1000,0ml
b) 11,976 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ p.a./1000,0ml
für pH 6,5 : 68,7 T.a) + 31,3 T.b)
2. MG für NADPH - Na_2 : 765,4
Einsatz pro ml Testansatz : 0,4 μMol = 300,16 μg
Einwaage 45,924 mg / 5,0 ml H_2O = $1,2 \cdot 10^{-2}$ m
Von dieser Lösung zum Test: 0,1 ml
3. Glutathion, oxydiert = GSSG, $1,5 \cdot 10^{-3}$ m
Einwaage 9,195 mg / 10,0 ml H_2O , neutralisiert n/10 NaOH
pH 6,4
Einsatz 0,1 ml Endkonzentration im Test $5 \cdot 10^{-4}$ m
4. Trilon, 10 % 10 g Titriplex III = Äthylendiamintetraacetat
heiß lösen und auf pH 7 neutralisieren

Haltbarkeit der Lösungen:

Nach BERGMAYER (5) hält sich die GSSG Lösung eingefroren mindestens vier Wochen; dagegen verliert die NADPH Lösung eingefroren nach einer Woche an Wirkung. Die Glutathion-reduktaseaktivität im Serum hält fünf bis sechs Tage an, wenn man das Serum tiefgekühlt aufbewahrt. In diesem Zusammenhang soll noch auf eine Arbeit von SÜDHOFF und WÖTZEL (85) hinge-

wiesen werden. Sie untersuchten eine Anzahl von Enzymen und berichteten über deren Aktivitätsverhalten bei Zimmertemperatur + 4° und bei - 20°. Alle von ihnen untersuchten Enzyme zeigten bei Zimmertemperaturen einen Aktivitätsverlust. Dieser ließ sich auch bei Aufbewahrung im Kühlschrank kaum aufhalten. Eine Konservierung der Serumproben gelang ihnen bei einigen Enzymen dadurch, daß sie die Enzyme auf den jeweiligen optimalen pH Wert einstellten.

Arbeitsweise:

1. Versuchsbedingungen:

Es kann nur frisches und hämolysefreies Serum verwendet werden, da der Gehalt der Erythrocyten an Glutathion und auch an Glutathionreduktase sehr hoch ist, so daß es bei einer Hämolyse zu einer starken Verfälschung der Meßergebnisse kommen würde. Meßstrahlung 366 mμ, Hg Schichtdicke 1 cm Meßvolumen 3 ml, Meßtemperatur 25°C.

2. Testansatz:

	Endkonzentration im Test
0,2 - 0,8 ml Serum	
0,1 ml GSSG $1,5 \cdot 10^{-3}$ m	$5 \cdot 10^{-4}$ m
0,1 ml NADPH, $1,2 \cdot 10^{-2}$ m	$4 \cdot 10^{-4}$ m
ad 3,0 ml Phosphatpuffer n. SÖRENSEN 0,067 m pH 6,5	

Vorgehen:

In unserem Falle wurde die Glutathionreduktaseaktivität bei 0,2 ml, 0,4 ml und 0,6 ml Serum gemessen. Die verschiedenen Serummengen wurden gewählt, um die Abhängigkeit der Reaktion von der Serummenge zu prüfen. Zuerst wurde der Phosphatpuffer und das Trilon in die Küvette einpipettiert. Dann wurde das GSSG zugegeben und der Blindwert abgelesen. Als letztes wurde dann das Serum einpipettiert und dann alle 15 Sekunden fünf Minuten lang die Extinktionsänderung registriert.

Beispiel eines Reaktionsansatzes für 0,2 ml Serum

0,03 ml Trilon

0,1 ml GSSG

0,1 ml NADPH

Phosphatpuffer 2,57 pH 6,5

Blindwert 59

Nullpunkt 200 (1000)

E ΔE (x 1000)

15"	226	1	15"	219	0
30"	225	1	30"	219	1
45"	224	1	45"	218	0
1'	223	1	3'	218	1
15"	222	1	15"	217	1
30"	221	1	30"	216	1
45"	220	0	45"	215	0
2'	220		4'	215	

usw.

NADH - spezifische Glutathionreduktase

Optimale Meßbedingungen:

Nach HORN und BRUNS (38) liegt das pH-Optimum im menschlichen Serum bei 6,2 . Diese Angabe wurde von uns nachgeprüft und wie aus der Abbildung Nr. 17 ersichtlich ist, haben wir den gleichen Wert gefunden. Phosphat hemmt das Enzym, dabei geht die Hemmung der Konzentration proportional. In 0,067 m Phosphatpuffer pH = 6,2 ist das Enzym bei Halbsättigung an NADH mit $5 \cdot 10^{-4}$ m GSSG gesättigt. Die Michaeliskonstante ist $K_{\text{GSSG}} = 2 \cdot 10^{-5}$ m. Bei Sättigung des Enzyms mit GSSG ist $K_{\text{NADH}} = 5 \cdot 10^{-4}$ m. Aus der Abbildung Nr. 17 wird ersichtlich, daß die Werte, die wir für die Abhängigkeit der Substratkonzentration gefunden haben, mit den Angaben von HORN und BRUNS übereinstimmen.

Die Abhängigkeit der Serum-Glutathion-Reduktase
des Menschen von der Substratkonzentration

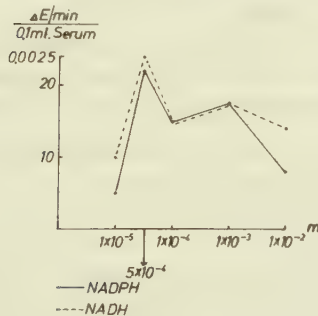


Abb. 17

Testansätze im Serum werden wie folgt durchgeführt.

Notwendige Reagentien:

1. NADH
2. Kaliumdihydrogenphosphat, KH_2PO_4
3. Dinatriumhydrogenphosphat, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
4. Trilon, 10 %
5. Oxydiertes Glutathion (GSSG)
6. Natronlauge, 1 N

Herstellung der Lösungen:

1. Phosphatpuffer nach SØRENSEN, 0,067 m (= m/15) für pH 6,2
Stammlösungen: a) 9,078 g KH_2PO_4 p.a./1000,0 ml
b) 11,976 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ p.a./1000,0 ml
für pH 6,2 : 81,6 T.a.) + 18,4 T.b.)
2. MG für NADH - Na_2 : 709,4
Einsatz pro Testansatz: 0,35 μMol = 250,68 μg
Einwaage 37,604 mg / 5,0 ml H_2O = $1,06 \cdot 10^{-2}$ m
von dieser Lösung zum Test 0,1 ml
3. Glutathion, oxydiert = GSSG, $1,5 \cdot 10^{-3}$ m
Einwaage 9,195 mg / 10,0 ml H_2O , neutralisiert n/10 NaOH
(pH 6,4
Einsatz 0,1 ml Endkonzentration im Test $5 \cdot 10^{-4}$ m
4. Trilon, 10 % g Titriplex III = Athylendiamintetraacetat
heiß lösen und auf pH 7 neutralisieren.

Arbeitsweise:

Bei der NADPH-abhängigen Glutathionreduktase haben wir die Reaktion durch Zugabe des Substrates gestartet. Bei der NADH-abhängigen Glutathionreduktase gingen wir zuerst ebenso vor. Dabei beobachteten wir aber im Serum nach NADH Zusatz schon eine deutliche Extinktionsabnahme. Diese Feststellung machte auch BERGMAYER (5). Er erklärte sie damit, daß die Serumprobe, die nicht enteiweißt wurde, noch andere NADH-

abhängige Enzyme enthält. Diese Enzyme können nun mit ihren Substraten reagieren, soweit sie im Serum vorhanden sind. Auf Grund dessen haben wir den Stillstand der Extinktionsabnahme nach Substratzusatz abgewartet und dann erst mit der Messung begonnen.

Beispiel eines Reaktionsansatzes für 0,2 ml Serum

0,03 ml Trilon

0,1 ml NADH

0,2 ml Serum

Phosphatpuffer 2,57 pH 6,2

240 (1000)

218 + 0,1 ml GSSG

E Δ E (x 1000)			
15"	207	15"	203
30"	206	30"	202
45"	205	45"	201
1'	204	2'	200
		usw.	

Berechnung:

Die für 0,2 ml, 0,4 ml und 0,6 ml Serum registrierten Extinktionsabnahmen wurden auf 0,1 ml / Minute ($\Delta E / 0,1 \text{ ml} / 1 \text{ Minute}$), umgerechnet.

Material:

Es wurde das Serum von zwanzig gesunden Versuchspersonen untersucht. Dabei handelte es sich um Spender der hiesigen Blutbank. Jeweils vor dem Spenden wurden 10 - 15 Kubikzentimeter pro Person abgenommen. Das Blut wurde anschließend zentrifugiert und dann die Glutathionreduktaseaktivität im Serum bei 0,2 , 0,4 und 0,6 ml bestimmt. Die hierbei erhaltenen Ergebnisse sind in den Tabellen Nr. 1 und Nr. 2 zusammengestellt worden.

In dem zweiten Teil dieser Arbeit wurde dann die Glutathionreduktaseaktivität bei 15 Patientinnen der Universitätsfrauenklinik bestimmt. Bei allen 15 Patientinnen lag ein carcinoma

colli uteri vor. In 12 Fällen handelte es sich dabei um ein carcinoma colli uteri der Gruppe III. Einmal lag ein Rezidiv vor und zweimal handelte es sich um ein carcinoma colli uteri der Gruppe II.

Vorgehen:

Zuerst wurde bei jeder Patientin vor der Strahlenbehandlung zweimal in Abständen von ein bis drei Tagen jeweils 15 Kubikzentimeter Blut entnommen. Danach wurden die Glutathionreduktaseaktivitäten dieser Proben bestimmt, um spätere Vergleichswerte gegenüber den Aktivitäten nach begonnener Bestrahlung zu haben. Anschließend wurde dann jeweils nach der 1., 3., 5., 10., 15. und 20. Bestrahlung wiederum eine Blutentnahme von jeweils 15 Kubikzentimeter vorgenommen. Die Glutathionreduktaseaktivitäten dieser Proben wurden innerhalb längstens sechs Stunden nach der Entnahme bestimmt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Tabelle 3 zusammengestellt. Bei den Entnahmen ließ es sich nicht vermeiden, daß die zeitlichen Abstände zwischen den einzelnen Sitzungen differierten, da die Bestrahlungsserien durch Radiumeinlagen unterbrochen wurden. Hiermit soll gesagt werden, daß bei den Ergebnissen der Tabelle Nr. 3 wohl jeweils die Glutathionreduktaseaktivitäten nach der gleichen Bestrahlungsserie bestimmt wurden, daß aber die zeitlichen Abstände zwischen diesen Bestrahlungsserien bei den einzelnen Patientinnen verschieden sind. Die in einer Sitzung verabfolgte Strahlendosis betrug jeweils 200 R von einer Telekobald-Therapie Einheit. Wie man aus den Daten der Patientinnen im Anhang ersieht, ist dort unter "Behandlung" Pendelkonvergenzbestrahlung angegeben. Man geht dabei so vor, daß man die Röntgenröhre außer der Bogenbewegung um die Körperlängsachse eine Translationsbewegung parallel zur Körperachse machen läßt. Um das Strahlenbündel stets auf den Herd auszurichten, muß die Röhre dabei eine zusätzliche Drehung um ihre Längsachse vollführen. Bei dieser Art der Bestrahlung resultiert ein Hautfeld in Form einer Zickzacklinie, die in ein rechteckiges Hautfeld eingeschlossen ist. Die Pendelkonvergenzbestrahlung stellt die Form der Bewegungsstrahlung mit konventionellen Röntgenstrahlen dar, mit der man die größte relative Tiefendosis erreichen kann.

E r g e b n i s s e

In den Tabellen 1 bis 3 sind die Ergebnisse dieser Arbeit zusammengestellt. Die Tabelle 1 zeigt die NADPH- und NADH-abhängigen Glutathionreduktaseaktivitäten von zwanzig gesunden Versuchspersonen. Wie man sieht, liegen die errechneten Mittelwerte bis auf eine Ausnahme dicht nebeneinander. Die Aktivitäten wurden jeweils bei 0,2 , 0,4 und 0,6 ml Serum bestimmt. Auch die Einzelwerte, die bei verschiedenen Serumengen bestimmt wurden, differieren kaum voneinander.

In der Tabelle 2 sind die NADH-abhängigen Glutathionreduktaseaktivitäten von zwanzig gesunden Versuchspersonen aufgeführt. Auch hier liegen alle Mittelwerte bis auf eine Ausnahme dicht beieinander. Wie man aus der Tabelle ersieht, ist nur der Mittelwert der dritten Versuchsperson auffallend erniedrigt.

In der Tabelle 3 ist die NADPH- und NADH-abhängige Glutathionreduktaseaktivität vor und während der Bestrahlung des carcinoma colli uteri angegeben. Die Mittelwerte, die unter der Rubrik 0 aufgeführt sind, setzen sich aus zwei Messungen zusammen, die in verschiedenen Abständen vor der Bestrahlung gemacht wurden. Die Werte unter den Rubriken 1, 3, 5, 10, 15 und 20 geben die NADPH- und NADH-abhängigen Glutathionreduktaseaktivitäten nach der 1., 3., 5., 10., 15. und 20. Bestrahlung wieder. Statistisch wurden zwei Fragen untersucht: Erstens, ob es signifikante Unterschiede zwischen den Normalwerten, die bei den zwanzig gesunden Versuchspersonen gewonnen wurden und zwischen den Werten, die bei dem an einem carcinoma colli uteri Erkrankten vor der Bestrahlung gemacht wurden, gibt. Zweitens, ob es signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Bestrahlungsserien gibt. Wie man aus den Mittelwerten der Tabelle 3 ersehen kann, tritt ein starker Aktivitätsabfall der NADPH-abhängigen Glutathionreduktase nach der 1. Bestrahlung ein.

Um die erste Frage zu klären, nämlich den Vergleich von Normalwerten Gesunder und den Werten von an einem carcinoma colli uteri Erkrankten, die vor der Bestrahlung gemacht wurden, wurde der Behrens - Fischer Test angewendet. Hierbei wurden weder für die NADH- noch für die NADPH-abhängigen Glutathion-reduktase statistische Auffälligkeiten festgestellt. Damit wurde bewiesen, daß sich die Glutathionreduktaseaktivität bei Gesunden nicht erheblich von der Aktivität bei an einem carcinoma colli uteri Erkrankten unterscheidet.

Um die zweite Frage zu klären, ob es signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Bestrahlungsserien gibt, wurde der t-Test angewendet.

Der t-Test dient zur Verlässlichkeitsprüfung von Unterschieden zwischen Mittelwerten. Es wird dabei geprüft, ob die durchschnittliche Differenz $\bar{d}$ von Null verschieden ist. Man geht dabei von der Annahme aus, daß die beiden Stichproben derselben Grundgesamtheit angehören (t-Test bei paarweiser Anordnung), wie das bei der zu klarenden Frage der Fall ist. Dabei wird dann folgendermaßen vorgegangen: zuerst werden die einzelnen Differenzen zweier Reihen errechnet. Man erhält dann $\bar{d} = x_2 - x_1$. Dann wird die Summe der Differenzen errechnet und durch n (Anzahl der Patientinnen) geteilt. ($\bar{d} = \frac{\sum d}{n}$) Danach werden die Differenzen ins Quadrat erhoben, dann die Summe der Differenzen ins Quadrat erhoben und durch n geteilt. ($\frac{(\sum d)^2}{n}$) Jetzt errechnet man aus der Quadratsumme die Summe der Abweichungsquadrate.

$$(S_{dd} = \sum d^2 - \frac{(\sum d)^2}{n})$$

Dann ist die Varianz die Summe der Abweichungsquadrate geteilt durch n - 1. Die Varianz der mittleren Differenz erhält man aus der Varianz der Differenzen geteilt durch n. Zieht man jetzt die Wurzel, erhält man die Standardabweichung der mittleren Differenz.

$$(s_d = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}})$$

Abschließend muß man nur noch die mittlere Differenz ($\bar{d}$) durch die Standardabweichung ($\sqrt{sd}$) dividieren und man erhält t .

In diesem Falle ergab sich für die NADPH-abhängige Glutathion-reduktase nach der 1. Bestrahlung ein t von 7,12. Sieht man jetzt in der t Tabelle unter der entsprechenden Anzahl der Freiheitsgrade (in diesem Falle vierzehn) nach, so ergibt sich eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,001 ($P < 0,001$). Demnach ist in einem von tausend Fällen zu erwarten, daß die gefundene Differenz zwischen den beiden Meßreihen durch zufällige Anordnung auftritt. Bei der Anwendung des t -Testes zwischen weiteren Bestrahlungsserien z.B. zwischen 0. und 3., 0. und 5. usw. ergab sich, wie man aus dem Anhang ansehen kann, kein signifikantes t .

Normalwerte

TPN-H = NADPH

E/min/0,1 ml

V - Person	0,2 ml	0,4 ml	0,6 ml	Mittelwert
1	0,0025	0,0020	0,0020	0,00216
2	0,0020	0,0015	0,0010	0,0015
3	0,0020	0,0020	0,0020	0,0020
4	0,0020	0,0030	0,0020	0,00233
5	0,0020	0,0020	0,0020	0,0020
6	0,0040	0,0040	0,0050	0,00433
7	0,0015	0,0020	0,0015	0,00163
8	0,0015	0,0020	0,0020	0,00183
9	0,0015	0,0020	0,0020	0,00183
10	0,0020	0,0020	0,0020	0,0020
11	0,0020	0,0020	0,0019	0,00196
12	0,0020	0,0020	0,0020	0,0020
13	0,0020	0,0020	0,0020	0,0020
14	0,0020	0,0020	0,0020	0,0020
15	0,0020	0,0020	0,0019	0,00196
16	0,0030	0,0030	0,0025	0,00283
17	0,0030	0,0030	0,0040	0,00333
18	0,0020	0,0020	0,0019	0,00196
19	0,0020	0,0015	0,0020	0,00183
20	0,0020	0,0020	0,0020	0,0020

N o r m a l w e r t e

DPN-H = NADH

E/min/0,1 ml

V - Person	0,2 ml	0,4 ml	0,6 ml	Mittelwert
1	0,0015	0,0013	0,0013	0,00137
2	0,0015	0,0015	0,0015	0,00150
3	0,0005	0,0010	0,0012	0,00090
4	0,0015	0,0012	0,0013	0,00133
5	0,0015	0,0017	0,0013	0,00150
6	0,0015	0,0017	0,0016	0,00160
7	0,0015	0,0017	0,0016	0,00160
8	0,0015	0,0017	0,0015	0,00157
9	0,0015	0,0022	0,0015	0,00173
10	0,0015	0,0017	0,0015	0,00157
11	0,0015	0,0015	0,0013	0,00143
12	0,0010	0,0015	0,0015	0,00133
13	0,0015	0,0015	0,0013	0,00143
14	0,0020	0,0020	0,0013	0,00177
15	0,0015	0,0012	0,0013	0,00133
16	0,0015	0,0015	0,0013	0,00143
17	0,0015	0,0015	0,0015	0,00150
18	0,0020	0,0020	0,0016	0,00187
19	0,0015	0,0015	0,0013	0,00143
20	0,0015	0,0015	0,0015	0,00150

Anzahl der Bestrahlungen

NADPH	0	1	3	5	10	15	20
NADH							
Pat. 1)	18,5 12,8	6,3 14,3	10,3 17,3	17,6 16,6	13,0 22,6	19,3 17,0	13,6 16,0
Pat. 2)	16,8 16,3	7,0 22,3	13,0 20,0	7,3 15,3	14,3 21,6	16,6 13,3	---- ----
Pat. 3)	18,8 15,8	6,0 23,3	14,3 18,3	11,6 14,0	23,6 14,3	12,6 20,6	15,0 17,6
Pat. 4)	25,5 15,3	13,6 11,6	19,6 18,3	15,0 20,0	27,6 18,3	14,3 15,6	16,6 16,0
Pat. 5)	19,1 16,3	7,3 16,6	16,0 15,3	14,3 15,3	21,0 22,3	20,0 20,6	15,0 18,3
Pat. 6)	17,6 14,3	10,3 10,3	21,6 19,0	23,3 17,3	29,3 17,6	26,0 19,3	19,7 20,0
Pat. 7)	20,8 16,3	4,3 17,3	25,6 17,3	---- ----	16,6 16,0	26,3 20,0	21,0 19,3
Pat. 8)	21,0 8,1	5,0 12,0	23,3 18,3	16,0 17,0	26,0 14,0	24,0 21,6	13,3 20,3
Pat. 9)	18,3 15,2	4,3 12,0	14,3 16,0	9,3 17,0	23,6 18,3	21,6 20,0	20,3 17,6
Pat. 10)	18,0 24,0	8,3 16,3	15,0 19,0	26,0 23,0	18,3 15,3	10,0 13,6	19,0 16,6
Pat. 11)	22,2 17,2	20,0 14,0	24,3 18,6	20,3 17,0	26,0 20,3	21,0 19,0	22,3 18,3
Pat. 12)	24,8 19,1	15,0 20,3	21,6 18,6	25,0 18,3	21,0 16,6	23,0 17,6	26,0 17,3
Pat. 13)	20,8 19,3	12,0 22,6	18,6 18,6	23,3 17,0	26,0 23,3	14,3 20,6	18,3 17,3
Pat. 14)	16,8 18,4	18,6 18,3	15,0 16,0	24,3 20,0	21,6 21,3	19,0 17,3	23,0 13,6
Pat. 15)	17,3 17,9	15,0 18,6	21,0 16,0	20,0 23,3	17,3 15,0	25,3 18,0	20,0 19,0
=====							
Summe	296,3 246,3	152,0 249,8	273,7 266,6	253,3 251,1	325,2 277,0	293,3 280,1	263,1 247,2
Mittelwert	19,75 16,42	10,13 16,65	18,25 17,78	18,09 17,93	21,68 18,47	19,53 18,67	18,79 17,66

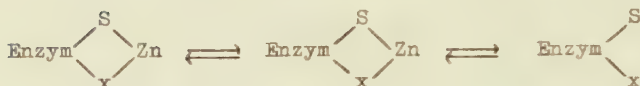
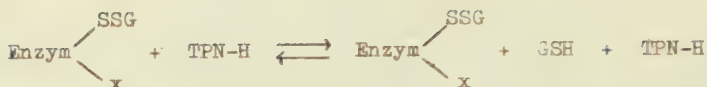
D i s k u s s i o n

Zuerst wurde das Serum von zwanzig gesunden Versuchspersonen untersucht. Die hierbei erhaltenen Ergebnisse für die NADPH und NADH spezifische Glutathionreduktase sind in den Tabellen Nr. 1 und Nr. 2 aufgezeigt. Die bei uns gewonnenen Werte stimmen mit den Daten, die HORN und BRUNS (38) in ihrer Arbeit "NADPH und NADH spezifische Glutathionreduktase im Serum des Menschen" angeben, überein.

Wie eingangs geschildert, katalysiert die Glutathionreduktase folgende Reaktion: $\text{NADPH} + \text{H}^+ + \text{GSSG} \longrightarrow \text{NADP} + 2 \text{GSH}$. Das Substrat Glutathion gehört dabei zu einer Gruppe von Substanzen welche, da sie reduziert in der Sulfhydryl- und oxydiert in der Disulfidform vorliegen, Oxydationen und Reduktionen im Zellstoffwechsel vermitteln können. Um diesen Mechanismus aufzuklären, gingen viele Untersucher darauf aus, Substanzen zu finden, welche den oben beschriebenen Vorgang hemmen können.

So beschreibt LANGDON (51) in seiner Arbeit, daß das Enzym bei 10^{-4} m p-Chloromercuribenzoat vollständig gehemmt wird. Diese Hemmung kann man durch den Zusatz von $3 \cdot 10^{-3}$ m Cystein rückgängig machen. Auch Zn^{++} - Ionen hemmen das Enzym. Diese Aktivitätshemmung ist mit EDTA, GSSG oder NADPH nicht rückgängig zu machen. Gibt man nun wieder in einer Konzentration von $3 \cdot 10^{-3}$ m hinzu, wird die Hemmung aufgehoben. LANGDON (51) folgert daraus, daß Zn^{2+} an einen katalytischen aktiven Ort des Enzymmoleküls gebunden wird. Auf Grund seiner Untersuchungen stellte er folgendes Schema auf:





BLACK und HUDSON (7) untersuchten die Glutathionreduktase in der Hefe. Sie fanden, daß das Enzym auch in Gegenwart von TPNH durch N-Äthylmaleimid, Iodoacetamid, Divinylsulfon und durch Quecksilberionen gehemmt wird. Sie nahmen an, daß wahrscheinlich eine oder mehrere THIOL-Gruppen in der Lage sind die Aktion von TPNH zu hemmen. Außerdem konnten sie feststellen, daß die Glutathionreduktase der Hefe als prosthetische Gruppe ein Flavin enthält. Es ist ihnen noch nicht gelungen, den Flavanteil vom Enzym zu trennen und genauer zu identifizieren.

RALL und LEHNINGER (74) untersuchten die Glutathionreduktase im tierischen Gewebe. Sie fanden dabei, daß unter anaeroben Bedingungen die Reduktion von GSSG (diese wurde aus Rattenleber Homogenaten gewonnen) durch die Zugabe von Citrat oder Glucose-6-phosphat und TPN stimuliert wird. Unter den gleichen Bedingungen fanden sie aber keine Stimulation der GSSG Reduktion nach Zugabe von Pyruvat, Ketoglutarat und Succinat. Ihre gewonnenen Extrakte waren erst dann in der Lage GSSG zu reduzieren, wenn sie TPN, Glucose-6-phosphat und gereinigte Hefe "Zwischenferment" hinzufügten.

MIZE, THOMSON und LANGDON (68) fanden in ihren beiden Arbeiten über die Glutathionreduktase eine Reihe von Daten, die bis dahin noch nicht bekannt waren. So konnten sie das Molekular-

gewicht der Glutathionreduktase der Leber auf 44.000 festlegen. Weiterhin stellten sie fest, daß das gereinigte Enzym die Oxydation von 839 n Molekülen an reduziertem TPNH pro Minute pro Milligramm des Proteins katalysiert und daß das gereinigte Enzym spezifisch für die TPNH Reduktion ist. Sie untersuchten auch den Einfluß von Hormonen auf die Glutathionreduktaseaktivität. Hierbei stellte sich heraus, daß die Stereoid-Hormone keinen Einfluß auf die Aktivität haben, daß aber Thyroxin die Glutathionreduktaseaktivität sehr stark hemmt.

Es wurden ausschließlich Patientinnen mit einem carcinoma colli uteri (dabei handelte es sich zwölfmal um ein carcinoma colli uteri im 3. Stadium, einmal um ein Rezidiv und zweimal um ein carcinoma colli uteri im 1. Stadium) untersucht. Dabei wurde interessanterweise festgestellt, daß es zwischen den Werten von Gesunden und den Werten von an carcinoma colli uteri Erkrankten, die vor der Bestrahlung gemacht wurden, keine statistisch auffallenden Unterschiede gibt.

Die Werte hierzu sind aus der Tabelle Nr. 3 unter der Rubrik O und aus den Tabellen Nr. 1 und 2 ersichtlich. Als Vergleichsmöglichkeit hierzu liegt leider nur eine Arbeit von HORN, MAINZER und LANGREHR (39) vor. Sie berichten in ihrer umfangreichen Studie "Zur Differentialdiagnose von Leberkrankheiten" auch vom Verhalten der Glutathionreduktaseaktivität im Serum bei Schwangeren und Genitalcarcinomen der Frau. Bei den Schwangeren fanden sie von sieben Fällen einmal einen erhöhten Wert. Bei den Kranken mit einem carcinoma colli uteri fanden sie bei elf Fällen im 1. Stadium keine pathologischen Werte, bei sieben Fällen im 2. Stadium einen pathologischen niedrigen Wert und bei neunzehn Fällen im 3. Stadium fünf erhöhte Werte und einen pathologischen tiefen Wert. In der letzten Gruppe war die Glutathionreduktaseaktivität um 35% erhöht.

In diesem Zusammenhang soll noch auf eine Arbeit von WALLER und GEROK (90) hingewiesen werden. Sie berichten über eine

51jährige Patientin mit einem carcinoma im 2. Stadium bei der es unter einer kombinierten Behandlung mit Radium und Röntgenpendelkonvergenzoestrahlung zu einer schweren Hämolyse kam. Als Ursache dieser strahleninduzierten Hämolyse fanden sie einen hereditären GSH - Mangel in den roten Blutzellen. Die Aktivitäten der Enzyme, die an der Glutathionreduktase beteiligt sind, verhielten sich dabei normal.

MANSO und WROBLEWSKI (62) fanden eine Erniedrigung der Glutathionreduktase im Serum bei infektiöser Hepatitis, coma hepaticum und carcinoma. Außerdem beobachteten sie im Liquor eine Erhöhung bei akuter bakterieller Meningitis. HORN und BRUNS (38) beschrieben einen Anstieg der Glutathionreduktaseaktivität bei einem Patienten mit unbehandelter pernicioöser Anaemie, bei einem Patienten während eines akuten Anfalls von kongenitaler Porphyrie und bei einem metastasierenden Magenkarzinom. Weiterhin berichten KALK, E., SCHMIDT und F. SCHMIDT und WILDHIRT (44) über einen Anstieg bei infektiöser Mononukleose. HORN, MAINZER und LANGREHR (39) verfaßten eine umfassende Studie über die Glutathionreduktaseaktivität bei verschiedenen Erkrankungen. Bei allen Untersuchungen bestimmten sie gleichzeitig die GOT und GPT und LDH Aktivität mit. Dadurch konnten sie aus dem Vergleich der verschiedenen Enzymaktivitätsschwankungen bei den einzelnen Krankheiten beurteilen, ob eine Einbeziehung der Glutathionreduktase in die klinische Diagnostik sinnvoll erscheint.

Bei Lebererkrankungen beobachteten sie: "Die Aktivitätsmaxima der Glutathionreduktase treten erst ein bis zwei Tage später auf als die der GOT und GPT. In bestimmten Krankheitsstadien wird dabei die Glutathionreduktaseaktivität inhibiert. Treten zum Beispiel während des Krankheitsverlaufes intermittierend parenchymnekrotische Schübe mit erneutem Transaminasen Anstieg auf, so kommt es auch hier wieder zu einer kurzfristigen Hemmung der Glutathionreduktase, die erst wieder

ansteigt, wenn die Transaminasen Aktivität absinkt. Wir fassen dies als Inhibitorenwirkung eines stofflich unbekannten Faktors, auf die Glutathionreduktaseaktivität auf."

Bei Cholelithiasis, Cholecystitis und Verschlußikterus fanden sie keine Erhöhung oder Erniedrigung der Glutathionreduktaseaktivität. Aus diesem Grunde weisen die genannten Autoren daraufhin, daß man die Glutathionreduktase hier zur Differentialdiagnose Hepatitis versus Verschlußikterus heranziehen könnte. In der Diskussion wurde die Feststellung getroffen, daß die Glutathionreduktaseaktivität für die klinische Diagnostik nicht spezifisch sein kann, weil dieses Enzym anscheinend zu der Enzymausstattung einer jeden Zelle gehört. Trotzdem schlagen sie vor, die Glutathionreduktaseaktivitätsbestimmung als zusätzliche Maßnahme zur Differentialdiagnose bei Leber und Oberbaucherkrankungen heranzuziehen.

Erst in jüngster Zeit ist es durch die Entwicklung neuer biochemischer Untersuchungsmethoden gelungen, nachzuweisen, daß zahlreiche hämolytische Anämien, die durch Medikamente ausgelöst werden können und die früher für verschiedene Krankheiten gehalten wurden, eine gemeinsame Ursache haben. 1926 beobachtete CORDES (15) als erster akute hämolytische Anämien bei amerikanischen Negern, die mit Plasmochin behandelt worden waren. Seither wurden zahlreiche Mitteilungen über das Auftreten solcher medikamentös ausgelöster Anämien bei Negern, Asiaten (Indern, Burmesen, Chinesen) und mediterranen Völkern (Griechen, Sardinern, Juden) veröffentlicht.

TURCHETTE (88) stellte 1948 eine familiäre Disposition zur Hämolyse bei der Behandlung mit Antimalariamitteln fest. Weitere Beobachtungen berichten inzwischen von über 40 Medikamenten, die bei disponierten Menschen vor allem der dunkelhäutigen Rassen Hämolysen auszulösen vermögen. Neben den Antimalariamitteln (Derivaten des 8- Aminochinolins) wurden folgende Substanzen als potentielle Ursache der hämolytischen Anämie erkannt:

Sulfonamide, Nitrofurane, Mepacrinchlorid, Acetanilid, Phenacetin, Acetylosalicylsäure, Aminophenazon, Antipirin, Sulfane, Dimercaprol, Methylenblau, Naphtalinderivate, Paraaminosalicylsäure, Phenylhydrazin, Procenecid, Vitamin-K-Analoga, Chloramphenicol und bestimmte Leguminosen wie Fababohnen, (*Vicia faba*) und Erbsen.

Die Arbeitsgruppe um ALVING und BEUTLER (6) konnte nachweisen, daß diesen medikamentös induzierten hämolytischen Krisen ein Mangel an reduziertem Glutathion in den Erythrozyten bzw. dessen Unstabilität gegenüber oxydativen Pharmaka zu Grunde liegt. Glutathion ist ein Tripeptid, das sich aus Glutaminsäure, Cystein und Glykokoll zusammensetzt und reduziert in der Sulfhydryl-, oxydiert in der Disulfidform vorliegt. Beide Formen können mit Leichtigkeit ineinander übergehen. Das Glutathion ist dadurch der Repräsentant einer Gruppe von Substanzen, die Oxydationen und Reduktionen im Zellstoffwechsel vermitteln, ohne dadurch irreversibel verändert zu werden. Nach genetischen Untersuchungen von BROWNE (9) und anderen Autoren folgt die Glutathion-Stoffwechselstörung in den roten Blutkörperchen einem inkomplett dominanten, geschlechtsgebundenen Erbgang. Die Überträger sind meist Frauen, erkrankt sind vor allem Männer, das Gen ist vermutlich am X-Chromosom lokalisiert. CARSON et al (10) gelang es, die Ursache der Erniedrigung und Instabilität des reduzierten Glutathions aufzuklären. Sie gingen von der Überlegung aus, daß die Reduktion des Glutathions von jenen Reaktionen des Glukosemonophosphatstoffwechsels in den Erythrozyten abhängt, die hydrierte Triphosphopyridinnucleotide (TPNH) liefern, und beobachteten an Erythrozyten Primachin - sensitiver Neger, daß die Reduktion des Glutathions nicht nach Zusatz von Glukose-6-phosphat, sondern von 6-Phospho-gluconat eintrat. Die Autoren schlossen daraus auf einen Mangel an Glukose-6-phosphatdehydrogenase (Warburgs Zwischenferment) in den Arzneimittel-sensitiven roten Blutkörperchen. Die Richtigkeit dieser Hypothese wurde inzwischen von zahlreichen anderen Autoren bestätigt.

Durch das hereditäre Fehlen der Glukose-6-phosphatdehydrogenase in den pathologischen Erythrozyten fällt also die Bildung hydrierter Triphosphopyridinnucleotide und damit die Glutathionreduktion aus. Dadurch werden zwar die glykolytischen Stoffwechselleistungen der enzymarmen roten Blutkörperchen herabgesetzt, der Gehalt an energiereichen Phosphaten (Adenosintridii- und monophosphorsäure) aber nicht beeinflusst. Diese Erythrozyten befinden sich offenbar trotz des Enzymdefektes mit ihrem Stoffwechsel noch an der Grenze der Kompensation, und ihre Lebensdauer ist ohne zusätzliche äußere Noxe nicht verkürzt. Die aufgeführten Pharmaka greifen in den Stoffwechsel normaler und enzymopenischer Blutkörperchen gleichsinnig ein, indem sie die Oxydation der hydrierten Pyridinnucleotide katalysieren. Die Primachin-sensitiven Erythrozyten werden dabei in ihrem Stoffwechsel besonders schwer gestört, weil ihr Gehalt an Pyridinnucleotiden a priori herabgesetzt ist und nicht genügend reduziertes Glutathion zum Schutz der noch vorhandenen hydrierten Pyridinnucleotide vorhanden ist. So kommt es in den pathologischen Blutkörperchen durch Hemmung der Glykolyse zu einem Abfall der energiereichen Phosphate, während stoffwechselgesunde Erythrozyten auch nach größeren Dosen oxydativer Pharmaka keine Minderung der energiereichen Phosphate aufweisen. Besonders leicht werden die älteren enzymopenischen Blutzellen hämolysiert, da ihr Gehalt an reduziertem Glutathion schon durch ihr Alter vermindert ist. Das erklärt, warum nach einer medikamentös induzierten Hämolysen trotz Weitergabe des Arzneimittels ein mehrwöchiges hämolysenfreies Intervall auftritt. Die nach einer hämolytischen Krise vorhandenen jungen Erythrozyten enthalten trotz fehlender Glukose-6-phosphatdehydrogenase normale Mengen an reduziertem Glutathion, das die Pyridinnucleotide vor der katalysierten Oxydation schützt.

Die tief eingreifende Störung des intermediären Zellstoffwechsels mit einem Absinken der energiereichen Phosphate unter die kritische Grenze führt zu einem Absterben der

Erythrozyten. Das denaturierte Hämoglobin fällt in Form feiner Granula aus, die als sogenannte Heinz'sche Innenkörperchen schon seit Jahrzehnten bekannt sind. Im Laufe von 2 bis 3 Tagen nach Applikation der entsprechenden Pharmaka kommt es dann zur intravasalen Hämolyse und zur Hämoglobinurie.

Umgekehrt verleiht aber diese Anomalie ihren Trägern einen gewissen Schutz vor der Malaria. Die Plasmodien brauchen nämlich für ihren Stoffwechsel reduziertes Glutathion, und so gedeihen sie in den defekten Erythrozyten schlecht.

Verlauf der Glutathionreduktaseaktivität während der Strahlenbehandlung:

In der Abbildung Nr. 18 sind die Mittelwerte aller fünfzehn Patientinnen zusammengestellt worden. Die Radiumdosis wurde in der Abbildung nicht berücksichtigt, da sie offensichtlich keinen Einfluß auf die Kurve zeigte.

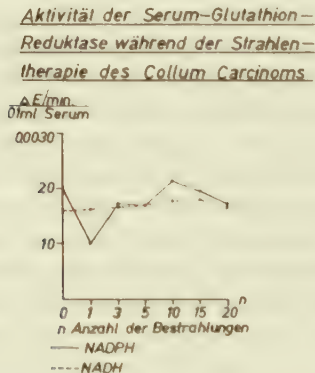


Abb. 18

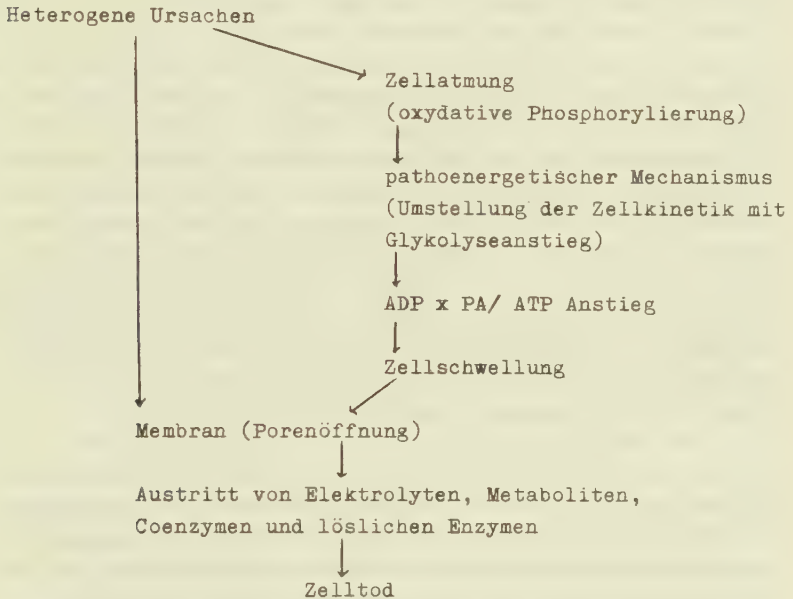
Wie man aus der Abbildung erkennt, kommt es nach der ersten Bestrahlung zu einem auffälligen Abfall der NADPH-abhängigen Glutathionreduktaseaktivität. Danach steigt die NADPH-abhängige Glutathionreduktaseaktivität zur Norm zurück und verändert sich dann bis zur letzten Bestrahlung nicht mehr. Weiterhin erkennt man, daß die NADH-abhängige Glutathionreduktaseaktivität offensichtlich unter der Bestrahlung keine Veränderung zeigt. Wie sich der Abfall nach der ersten Bestrahlung erklärt, ist unklar. Einige Möglichkeiten, die diesen Abfall erklären könnten, sollen aufgezeigt werden. Man konnte sich vorstellen, daß es auf Grund der Strahlenwirkung zu einer Eliminierung, Inaktivierung oder zu einem Abbau des Enzyms kommt. Die Enzyme befinden sich in einem dauerndem Umsatz. Dadurch daß sie fortwährend synthetisiert, inaktiviert und abgebaut werden, kann man in den Zellen einen stationären Enzymspiegel nachweisen. Durch aktive Sekretion oder durch pathologische Vorschläge gelangen die Enzyme in das Blutplasma, so daß es auch hier zur Ausbildung eines konstanten Enzymspiegels kommt.

Auch der Plasmaenzymspiegel kann nur erhöht oder erniedrigt werden, so daß die Blutplasmaenzyme dauernd inaktiviert und abgebaut oder aus dem Plasma eliminiert werden. HESS (34) gibt für das Verschwinden von Enzymproteinen aus dem vasa- und extravasalen Raum drei Gründe an. 1. Die Elimination von Plasmaenzymen durch aktive Aufnahme der Enzyme in die Zelle. 2. Die intravasale oder extravasale Enzymaktivierung und Degradation. 3. Die Exkretion von Plasmaenzymen.

Der Abbau der Enzyme ist noch nicht vollends geklärt. Viele Autoren (34) fanden, daß der Abbau der Serumenzyme bis zu den Aminosäuren erfolgt. Der Ort des Abbaues ist unklar. ANKER (1) nimmt an, daß der Abbau sowohl extravasal als auch intravasal erfolgt. Auch der Mechanismus des Enzymabbaues ist noch unbekannt. Mit Hilfe der neueren Untersuchungsmethoden kann man die Abnahme der Enzymaktivität registrieren.

Der strukturelle Abbau erfolgt so, daß es zu einer Lösung der quaternären, tertiären, sekundären und primären Struktur der Proteine kommt, wobei dann niedermolekulare Peptidketten und letztlich Aminosäuren gebildet werden. Kommt es zur Lösung der tertiären Struktur, so geht die Enzymaktivität verloren und es tritt eine irreversible Denaturierung ein. Entscheidend ist also der Mechanismus durch den die quaternäre und tertiäre Struktur aufgehoben wird. Auch dieser Mechanismus ist noch nicht aufgeklärt. Wichtig in Bezug auf den chemischen Reaktionsmechanismus sind hier die SH-Gruppen und SS-Brücken. Sie dienen der Erhaltung der Tertiärstruktur. Eine Reduktion oder Oxydation dieser Verbindungen führt bei vielen Enzymen zu einer Inaktivierung des Proteins. Auch die Temperaturabhängigkeit spielt in Bezug auf den Enzymabbau und die irreversible Denaturierung eine wichtige Rolle. Bei Abfall der Temperatur sinkt auch die Inaktivierungsgeschwindigkeit, so daß es zu einem Anstieg der stationären Konzentration des Enzyms im Plasma kommt. Den Abfall der NADPH-abhängigen Glutathionreduktaseaktivität konnte man sich so vorstellen, daß die Strahlenwirkung in einen der beschriebenen Mechanismen eingreift. Wieso es zu diesem Abfall nur nach der 1. Bestrahlung kommt, ist noch unklar und bleibt weiteren Arbeiten vorbehalten. Eine weitere Möglichkeit diesen Abfall zu erklären wäre die, daß es unter der Strahlenwirkung zu einer erhöhten Ausscheidung des Enzyms im Urin kommt, z.B. durch eine Erhöhung der Nierenschranke, so daß es zu einer vermehrten Proteinausscheidung kommt. Unter physiologischen Bedingungen wird durch die Zellmembran Enzymweiß intracellulär retiniert, die intracellulären Enzymaktivitäten liegen dabei viel höher als die extracellulären, so daß ein hoher Konzentrationsgradient zwischen dem intracellulären und extracellulären Raum besteht. Dieser Konzentrationsgradient bewirkt die Diffusion von Enzymen aus dem Zellinnern in den extracellulären Raum. Zwischen dem intra- und extracellulären Konzentrationen liegt die Zellmembran. Zur Aufrechterhaltung dieser Konzentration verbraucht die Zelle erhebliche Mengen an Energie.

Unter pathologischen Bedingungen wird nun die Membranfunktion reversibel oder irreversibel geschädigt. In dem nun folgenden von HESS (34) angegebenen Schema wird dieser Mechanismus aufgezeigt.



Ob eine dieser hier aufgezeigten Möglichkeiten, den NADPH-abhängigen Glutathionreduktaseaktivitätsabfall zu erklären, zutrifft oder ob diesem Abfall ein anderer Mechanismus zu Grunde liegt, bleibt weiteren Arbeiten vorbehalten.

In den letzten fünfzehn Jahren wurden eine beinahe unübersehbare Anzahl von Untersuchungen über ionisierende Strahlen veröffentlicht. Ionisierende Strahlen sind solche, die auf Grund der Wechselwirkung mit der Materie aus deren Atome Elektronen auslösen und Ionenpaare erzeugen können. Um ein Ionenpaar zu bilden wird im Mittel eine Energie von 32-35 e V

(Elektronenvolt) benötigt. Reicht diese Energie nun nicht aus um ein Ionenpaar zu bilden, dann wird das Elektron nur auf ein höheres Niveau gehoben, es wird "angeregt". Ist umgekehrt diese Energie größer, so wird das Elektron mit der Geschwindigkeit ausgelöst, die der überschüssigen Energie entspricht. Das sozusagen herausgeschossene Elektron kann dann nun seinerseits Atome, die es durchquert, ionisieren.

Die energiereiche Strahlung läßt sich nun in zwei Klassen einteilen: 1. In die "Corpuskularstrahlung", welche aus Bündeln atomischer und subatomischer Partikel besteht, die sich mit unterschiedlicher Geschwindigkeit fortbewegen. Zu den Corpuskularstrahlen gehören Elektronen und Positronen, dann schwer geladene Partikel wie Protonen (Atomkerne von Wasserstoff und Alpha-Partikel (Atomkerne von Helium), dann noch Deuteronen (Atomkerne des schweren Wasserstoffes) und neutrale Partikel, die sogenannten Neutronen. Die Corpuskularstrahlen unterscheiden sich von der "elektromagnetischen Strahlung" dadurch, daß sie in ihrer Reichweite beschränkt sind.

2. In die "elektromagnetische Strahlung", welche Wellen darstellt, bei denen die elektrische und magnetische Feldstärke hin und her schwingt und die sich mit Lichtgeschwindigkeit fortbewegen. Innerhalb der elektromagnetischen Strahlung liegt der Bereich nämlich der ionisierenden Strahlen, welche uns hier interessieren, jenseits des Ultravioletts. Die Strahlenmenge, die in der Materie über diese Ionisationsprozesse absorbiert wird, bezeichnet man als Strahlendosis. Man kann diese bestimmen, indem man die entstehenden Ionenpaare mißt. Die Dosisseinheit 1 R (Röntgen) ist dann die Strahlenmenge, die in 1 ml Luft bei 0° C und 760 mm Hg $2,08 \times 10^9$ Ionenpaare erzeugt.

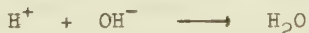
Was spielt sich nun in dem Gewebe ab, auf das diese Strahlen treffen? Hierbei muß man zunächst beachten, daß die bestrahlte Materie verschieden empfindlich reagieren kann. Das hängt davon ab, ob die Absorption in empfindlichen Bereichen oder

an Gebieten erfolgt, welche für die Funktionstüchtigkeit der Zelle nicht so entscheidend sind. Der Strahleneffekt hängt dann also von dem Ausmaße ab, indem gerade diese empfindlichen Bereiche von Primärprozessen, die man dann auch "Treffer" nennt, getroffen werden. Je nachdem ob nun ein Treffer zur Abtötung einer Zelle ausreicht oder ob mehrere Treffer in solch einem empfindlichen Bereich erforderlich sind, um eine Funktionsauslöschung zu erreichen, spricht man dann von "Eintreffer bzw. Mehrtrefferprozessen". Die klassische Treffertheorie bezog sich früher nur auf solche Treffer, die direkt an einem bestimmten Molekül stattfinden. RAJEWSKY (72) machte dann als erster auf Vorgänge aufmerksam, die er als indirekte Treffer bezeichnete.

Er hatte nämlich festgestellt, daß es zum Beispiel in wäßrigen Lösungen zu Veränderungen kommen kann, die nicht nur auf die direkte Trefferwirkung zurückzuführen sind. Beim Wasser verhält es sich so, daß ionisierende Strahlen zur Dissoziation und Bildung von Radikalen führen.



Diese Radikale können nun zu oxydierbaren und reduzierbaren Molekülen gelangen und mit diesen reagieren. Das gelingt allerdings nur, wenn diese Reaktionspartner gleich vorhanden sind, weil die Lebensdauer dieser Radikale sehr kurz ist. Treffen sie nicht mit anderen Molekülen zusammen, kommt es zur Rückreaktion.



Ist nun das Wasser sauerstoffhaltig dann kann sich folgendes Radikal bilden.



Dieses kann dann zu H_2O_2 werden. Die unterschiedliche Wirksamkeit liegt nun darin, daß das HO_2 - Radikal eine längere Lebensdauer zeigt. Folglich müssen die indirekten Treffer-

reaktionen in sauerstoffhaltigen Geweben größer sein. Gerade diese indirekte Strahlenwirkung ist von großer Bedeutung, da die Zelle ja zum überwiegenden Teil aus Wasser besteht.

Nun sollen die Wirkungen ionisierender Strahlen, die zu Veränderungen an den Grundstrukturen der Zelle führen, aufgezeigt werden. EULER und HAHN (23) untersuchten den Einfluss von Strahlen auf isolierte Zellkerne und auf Zellkerne, die in der intakten Zelle bestrahlt worden waren. Die isolierten Kerne wurden dabei mit 60.000 R bestrahlt und ihre Nucleoproteide zeigten keine Veränderungen. Dagegen veränderten sich aber diejenigen Kerne, die in den intakten Zellen bestrahlt worden waren. JÜNGLING und LANGENDORFF (43) konnten zeigen, daß ionisierende Strahlen in der Lage sind, den Ablauf der Kernteilung zu stören, so daß es zu einem Absinken der Mitoserate kommt. Bestrahlt man sich teilende Kerne, so kommt es zu Verklebungen und Verklumpungen der Chromosomen, wie LEA (53) zeigen konnte. Auch die Nukleolen verändern sich unter der Bestrahlung, wie GLAUSER (28) bewies. Ihre Form ist dabei ungleichmäßig und öfters zeigen sich Einschnürungen und Randzacken. GLAUSER (28) beobachtete an der Leber der Maus nach 400 R ein Verschwinden der Mitochondrien "in Form eines allmählichen Verdämmerns in der Grundstruktur des Cytoplasmas". Gleichzeitig verschwinden die Ergastoplasmalamellen des Cytoplasmas wahrscheinlich auf Grund der Unterbrechung des Zellstoffwechsels. BOTTERMANN und SCHNEIDER (8) verfolgten diese Mitochondriendegeneration bei Paramecium in allen Einzelheiten. Dabei beobachteten sie, daß es zunächst zu einer Abtragung des äußeren Blattes der Mitochondrienhüllmembranen kommt und dann der Abbau zu den tubuli mitochondriales weitergeht. Weiterhin berichten sie, daß die Strahlenwirkung an Mitochondrien eine Störung der Fettsäureoxydation zur Folge hat, da unter der Bestrahlung eine Anhäufung von Lipoidtröpfchen im Cytoplasma auftritt.

Zu welchen Veränderungen im Zellstoffwechsel kommt es auf Grund einer Bestrahlung? Im Vordergrund steht dabei der Nucleinsäurestoffwechsel, weil fast alle Zellstoffwechselveränderungen von einer primären Störung im Zellkern ausgehen. Die vorhin erwähnte Mitosehemmung erklärte man damit, daß eine Hemmung der DNS-Synthese vorliegen konnte. EULER und HEVESY (23) zeigten am Jensen - Sarkom der Ratte mit Hilfe von ^{32}P , daß nach einer Bestrahlung von 1500 R weniger DNS gebildet wird als ohne Bestrahlung. Im Gegensatz dazu steht die Beobachtung von KELBY (45), daß an EHRlich-Ascitescarcinomzellen nach Strahlendosen, die die Zellteilung vollkommen zum Erliegen brachten, keine nennenswerte Hemmung der DNS-Synthese eintrat. ENGELHARDT und Mitarbeiter (22) befaßten sich mit der Wirkung von UV und Röntgenstrahlen auf Eiweiße. Sie konnten feststellen, daß bei der Denaturierung von Protein zwischen der Temperatur abhängigen Folgereaktionen der Denaturierung unterschieden werden muß. RAJEWSKY und PAULI (73) stellten fest, daß die Röntgenstrahlungsaktivierung einer Reihe Eiweiß abbauender Enzyme (Arginin - Decarboxylase aus *E. coli*, tyrosin - Decarboxylase aus *Streptococcus faecalis*) nicht nur von der Dosis abhängig ist, sondern auch vom Wassergehalt und vom jeweiligen Zustand des Enzymmoleküls. Die Halbwertsdosen liegen dabei in der Größenordnung von 0,1 bis 1 Mega Röntgen. ECKART und WACKER (20) konnten beweisen, daß Zellen von *Lb. Leichmannii*, welche auf Nährboden mit Vitaminen B_{12} gewachsen sind, viel resistenter gegenüber UV-Bestrahlung sind, als Zellen, denen man anstelle von Vitamin B_{12} Guanin-Desoxyribosid zugesetzt hatte. Weitere umfangreiche Arbeiten über die Strahlenwirkung auf den Nucleinsäurestoffwechsel, die Proteinsynthese und den Aufbaustoffwechsel veröffentlichte HAGEN (30, 31, 32). So konnte er beweisen, daß die Empfindlichkeit vom Mitosestadium unabhängig ist, indem er Versuche an regenerierenden Rattenlebern machte. Wenn man eine partielle Hepatektomie macht, sind nach 24 bis 30 Stunden die meisten Zellen im Stadium der DNS-Synthese. Zu diesem Zeitpunkt sind die

SH Schutzkörper unwirksam. Er erklärte das damit, daß zu diesem Zeitpunkt die Desoxyribonukleoproteide an andere Eiweiße gebunden sind. Weiterhin konnte HAGEN (31) zeigen, daß durch Strahlenwirkung die Aktivität der DNS-ase I, die den Abbau von Desoxyribonukleinsäure katalysiert, erniedrigt wird. Auch das Gelatine spaltende Kathepsin in Milz und Thymus erfährt nach HAGEN (32) eine Fermentaktivierung.

Im Kohlenhydratstoffwechsel kommt es unter der Strahlenwirkung zu folgenden Veränderungen:

Grundlegende Arbeiten auf diesem Gebiet wurden von RATHGEN, MAASS, KÜNKEL und BETTENDORF unternommen. RATHGEN und MAASS (78) wiesen an soliden Tiertumoren, am carcinoma colli uteri des Menschen und am Yoshida - Ascites - Sarkom nach in vitro Bestrahlungen mit Dosen von 10.000 bis 20.000 R eine eindeutige Depression des Kohlenhydratumsatzes, besonders der anaeroben Glykolyse nach. So fanden sie bei einer Dosis von 20 bis 25 KR eine Hemmung der aeroben Glykolyse um 30 % und der anaeroben Glykolyse um 50 %. Bei der Untersuchung der stationären Metabolitenverschiebungen konnten RATHGEN, KÜNKEL, HÖHNE und MAASS (78) zeigen, daß es zu einer Erhöhung der Zwischenprodukte kommt, welche vor der Triosephosphat - Dehydrogenierung liegen. Der anorganische Phosphat- und der Adenosintriphosphatspiegel sinkt dabei ab, während der Adenosindiphosphatspiegel ansteigt. RATHGEN und MAASS (80) widerlegten auch die Annahme, daß die Triosephosphatdehydrogenase in der Enzymkette am strahlenempfindlichsten sei, durch Versuche an Yoshida - Ascites - Sarkomzellen. Die Triosephosphatdehydrogenase zeigte bei Dosen, die eine fünfzigprozentige Hemmung der Glykose bewirken, keine Veränderung. In weiteren Versuchen wiesen RATHGEN und MAASS (79) nach, daß die DPN-Konzentration bis auf ein Drittel ihres ursprünglichen Wertes absinkt.

Außer der Triosephosphatdehydrogenase zeigten sich bei Dosen von 5 bis 20 KR eine weitere Anzahl von Enzymen als Strahlen-

resistent. So zum Beispiel die Glukose - 6 - Phosphat - Dehydrogenase, Aldolase, Triosephosphat - Isomerase, Glyzerinaldehyd - Dehydrogenase, Milchsäuredehydrogenase, Apfelsäuredehydrogenase und die Glutaminsäuredehydrogenase. (56, 57, 58, 59)

Das Verhalten des Glutathion unter der Strahlenwirkung ist insofern wichtig, da das GSH als Donator der SH-Gruppen angesehen wird. GSH hat dabei die Aufgabe, für die Konstanterhaltung der SH-Gruppen in reduziertem Zustand zu sorgen. Jede Störung ändert sich dann dementsprechend in einer GSH-Änderung. Ehe diese Frage näher untersucht wird, möchte ich erst auf die Bedeutung der freien SH-Gruppen eingehen. Diese spielen eine wichtige Rolle im Zusammenhang mit den Zellteilungsvorgängen. So nahm RAPKINE (75) an, daß die Zu- und Abnahme des Gehaltes an SH-Gruppen während des Mitosezyklus durch eine Verschiebung der Relation von oxydiertem zu reduziertem Glutathion bedingt sei. Weiterhin glaubt er, daß es die Disulfidbrücken der Zellproteine zu reduzieren vermag, während oxydiertes Glutathion freie SH-Gruppen des Proteins zu Disulfidbrücken oxydiert. Danach käme dem Glutathion die entscheidende Rolle im Auf- und Abbau der Mitosefigur zu.

MAZIA (66) unternahm folgenden Versuch: Er versuchte den gesamten mitotischen Apparat von den sich teilenden Zellen zu isolieren. Die Schwierigkeit lag nun darin, Bedingungen zu finden unter denen man die cytoplasmatischen Bestandteile von dem mitotischen Apparat trennen konnte. Tatsächlich gelang es ihm dann, mit Digitonin diese Trennung vorzunehmen. Dann folgerte er, wenn dieser mitotische Apparat eine Disulfid gebundene Struktur haben sollte, müßte man ihn mit Substanzen, welche SS-Gruppen reduzieren, löslich machen können. Dieses gelang ihm dann mit einer einprozentigen Thioglykollat-Lösung bei pH 11,5. Damit konnte er beweisen, daß die Spindel in der

Hauptsache aus Protein besteht, welche über SS-Brücken miteinander verbunden sind. Weiterhin fügte er, daß der Abfall des löslichen SH während der ersten Phase synchron mit dem Anstieg des am Protein gebundenen SH einhergeht. Dieses versucht er folgendermaßen zu erklären. Er meint, daß während der Phase in der das Cytoplasma noch löslich ist, es verhältnismäßig wenige intermolekulare Brücken gibt und daß deswegen die intramolekularen SS-Verbindungen die Quelle des Protein-SH-Anstiegs sind.

Dafür stellte er folgende Schema auf:



Schematische Darstellung der Hypothese von MALZ nach den Daten von ELLIS und RABKINE über die Polymerisation von Proteinen beim Aufbau des Mitochondriums

Abb. 19

Welche Veränderungen bewirkt nun die Strahlenwirkung beim Glutathion? Die bis heute vorliegenden Ergebnisse sind unterschiedlich. So fand RATHGEN (76), daß eine Ganzkörperbestrahlung bei Ratten mit 800 R nach 30 Minuten zu einer Verminderung des oxydierten als auch des reduzierten Anteiles des Gesamtglutathion der Milz führt. In der Leber fällt nur das oxydierte Glutathion ab, während der GSH-Spiegel ansteigt.

ZIEHA BLAHOSLAR und Mitarbeiter (94) beobachteten die Veränderungen des reduzierten Glutathions unter gleichzeitiger Bestimmung der Glutathionreduktaseaktivität in der Leber ganzkörperbestrahlter Ratten nach einer Dosis von 1400 R. Sie fanden dabei ein GSH-Anstieg bis auf 169 % des Ausgangswertes. Der Anstieg wies einen bisphasischen Charakter auf. Jedem Maximum des Glutathion entsprach ein Minimum der Glutathionreduktase.

WERNZE, BRAUN und KOCH (91) untersuchten ebenfalls das Verhalten des reduzierten Glutathions nach Röntgen-Ganzkörperbestrahlung in Leber, Milz, Erythrocyten und Herzmuskel von Ratten. Sie fanden im Akut-Versuch einen GSH-Anstieg nach 400, 1200 und 2000 R.

PETERSON und Mitarbeiter (69) fanden dagegen nach einer Ganzkörperbestrahlung von 500 R einen Abfall des GSH-Gehaltes der Erythrocyten und der Leber.

ASHERWOOD-SMITH (2) untersuchten den Gehalt an reduziertem Glutathion von Rattenthymus bei einer Röntgen-Ganzkörperbestrahlung von 200 und 900 R. Sie fanden dabei einen merklichen Abfall.

Die Bedeutung der hier beschriebenen, zum Teil widersprüchlichen Ergebnisse, die bei der Untersuchung des Glutathionstoffwechsels nach Strahlenwirkung gefunden wurden, ist noch völlig unklar. Ebenso wie auch die Aufgabe des Glutathions im Gesamtstoffwechsel der Zelle letztlich noch nicht aufgeklärt werden konnte.

Z u s a m m e n f a s s u n g

1. Es wurden 20 Seren Gesunder auf ihre NADPH- und NADH-abhängigen Glutathionreduktaseaktivitäten untersucht.
2. Es wurden 15 Patientinnen mit einem carcinoma colli uteri untersucht. Dabei handelte es sich zwölfmal um ein carcinoma colli uteri der Gruppe III, einmal um ein Rezidiv und zweimal um ein carcinoma colli uteri der Gruppe I. Dabei wurden jeweils zwei Proben vor der Bestrahlung in zeitlich voneinander verschiedenen Abständen entnommen und dann jeweils eine Probe nach der 1., 3., 5., 15. und 20. Bestrahlung untersucht.
3. Es ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Werten Gesunder und den Werten der an carcinoma colli uteri Erkrankten, die jeweils vor der Bestrahlung gewonnen wurden.
4. Nach der 1. Bestrahlung kam es zu einem auffälligem Abfall der NADPH-abhängigen Glutathionreduktaseaktivität, während die NADH-abhängige Glutathionreduktaseaktivität keine von der Norm abweichenden Veränderungen zeigte.

A n h a n g

In den nun folgenden Abbildungen 1 - 15 sind für jeden einzelnen Patienten die NADPH und die NADH abhängigen Glutathionreduktase-aktivitäten jeweils nach der ersten, dritten, fünften, zehnten, fünfzehnten und zwanzigsten Bestrahlung aufgezeichnet.

Aktivität der Serum-Glutathion- Reduktase während der Strahlen- therapie des Collum Carcinoms

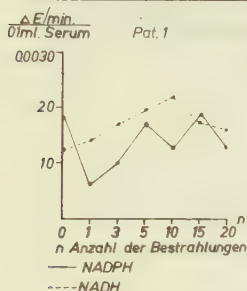


Abb. 1

Aktivität der Serum-Glutathion- Reduktase während der Strahlen- therapie des Collum Carcinoms

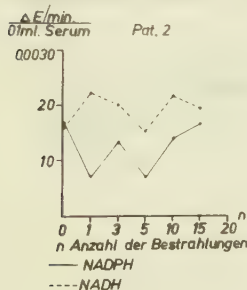


Abb. 2

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

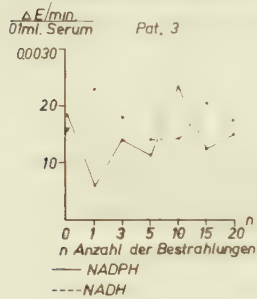


Abb. 3

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

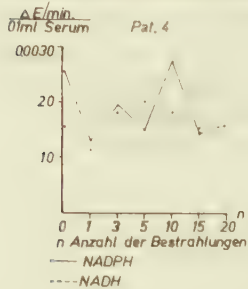


Abb. 4

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

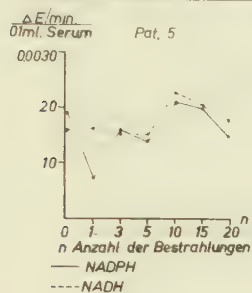


Abb. 5

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

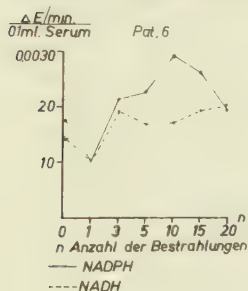


Abb. 6

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

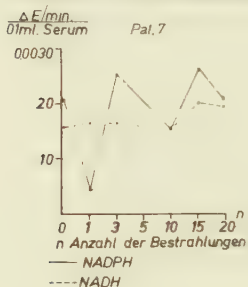


Abb. 7

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

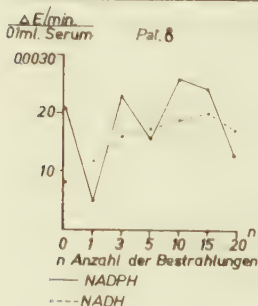


Abb. 8

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

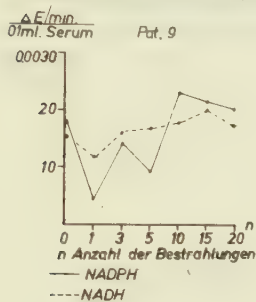


Abb. 9

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

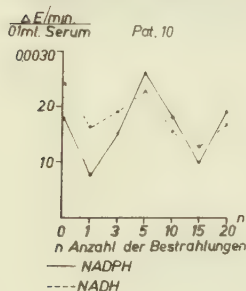


Abb. 10

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

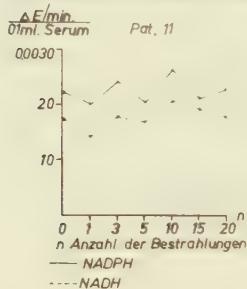


Abb. 11

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

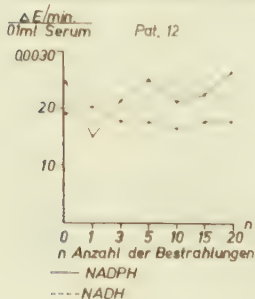


Abb. 12

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

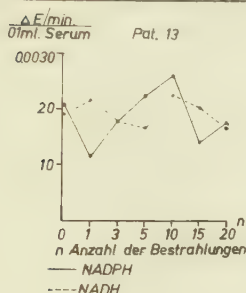


Abb. 13

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

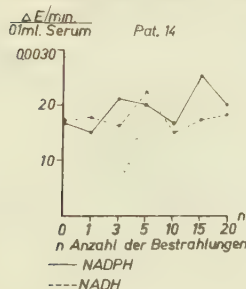


Abb. 14

Aktivität der Serum-Glutathion-
Reduktase während der Strahlen-
therapie des Collum Carcinoms

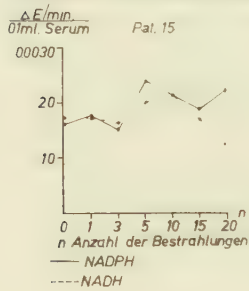


Abb. 15

Daten der untersuchten Patientinnen

1.) Br. - He.

Aufnahmetag: 12. 12. 1963
Entlassungstag: 21. 1. 1964
Alter: 59 Jahre
Diagnose: Collum - Ca III
Behandlung: Radium
1. Einlage - Trichter - 2000 mgh
2. Einlage - Stab und Platte 4000 mgh
Telecobalt: Pendelbestrahlung
Gesamtdosis: 4000 R / Parametrium
Einzeldosis 200 R
20 Sitzungen innerhalb von 31 Tagen

Histologie: Plattenepithelkarzinom

2.) Ba. - Ma.

Aufnahmetag: 3. 3. 1964
Entlassungstag: 8. 6. 1964
Alter: 46 Jahre
Diagnose: Collum - Ca III
Es handelte sich um ein Rezidiv. Das primär
Karzinom wurde im Januar 1963 festgestellt.
Behandlung: Telecobalt: Pendelbestrahlung des rechten
Parametriums
Gesamtherddosis 6000 R
Einzeldosis 200 R
30 Sitzungen

Komplikationen: Wegen Blasen und Darmbeschwerden wurde
die Therapie zeitweilig (1 bis 2 Tage)
ausgesetzt.

3.) We. - Ol.

Aufnahmetag: 3. 12. 1963

Entlassungstag: 21. 3. 1964

Alter: 50 Jahre

Diagnose: Collum - Ca III

Histologie: Plattenepithelkarzinom der Portio mit geringen Anläufen zu einer Verhornung und ausgedehnten Geschwulstnekrosen

Behandlung: Radium

1. Einlage - Trichter - 2420 mgeh

2. Einlage - Platte und Stab 2200 mgeh

3. Einlage - Trichter, Dorn 2200 mgeh

Telecobalt: Gesamtdosis 4400 R / Parametrium
Einzeldosis 200 R

22 Sitzungen innerhalb von 36 Tagen

4.) Ne. - An.

Aufnahmetag: 28. 11. 1963

Entlassungstag: 22. 1. 1964

Alter: 51 Jahre

Diagnose: Collum - Ca III

Histologie: Adenocarcinom mit pseudoepithelialen Anteilen

Behandlung: Radium

1. Einlage - Stab und Platte 3200 mgeh

2. Einlage - Stab und Platte 3360 mgeh

Telecobalt: Gesamtdosis 4100 R / Parametrium
Einzeldosis 200 R

21 Sitzungen innerhalb von 42 Tagen

Die ersten 3 wurden unter Stehfeldbedingungen,
die letzten 18 unter Pendelbestrahlungen
verabreicht.

5.) Kl. -

Aufnahmetag: 10. 12. 1963
Entlassungstag: 24. 2. 1964
Alter: 49 Jahre
Diagnose: Collum - Ca III
Histologie: Plattenepithelkarzinom
Behandlung: Radium
1. Einlage - Platte 2700 mgeh
2. Einlage - Stab und Platte 2400 mgeh
3. Einlage - Stab 2430 mgeh
Telecobalt: Gesamtdosis 4000 R / Parametrium
Einzeldosis 200 R
26 Sitzungen innerhalb von 38 Tagen

6.) St. - Ma.

Aufnahmetag: 9. 11. 1963
Entlassungstag: 22. 1. 1964
Alter: 52 Jahre
Diagnose: Collum - Ca I
Histologie: Plattenepithelkarzinom
Behandlung: 1. Wertheim'sche - Radikaloperation
Radium (1500 mgeh) und Telecobalt (4000 R)

7.) Sc. - An.

Aufnahmetag: 1. 12. 1963
Entlassungstag: 14. 2. 1964
Alter: 66 Jahre
Diagnose: Collum - Ca III
Histologie: Mikroskopisch findet sich das gesamte Portiogewebe durchsetzt mit einem stark verwilderten, aber stellenweise deutlich plattenepitheliale Differenzierung zeigenden Karzinom.

Behandlung: Radium
1. Einlage - Platte 2400 mgen
Telecobalt: Gesamtherddosis -
Einzeldosis 200 R
Nach der 27. Sitzung mußte die Behandlung
abgebrochen werden, weil die Patientin
an einer Apoplexie ad exitum kam.

8.) Sc. - He.

Aufnahmetag: 22. 4. 1963
Entlassungstag: 12. 6. 1963
Alter: 38 Jahre
Diagnose: Collum - Ca III
Histologie: Plattenepithelkarzinom mit mittlerer
Gewebsreife
Behandlung: Radium
1. Einlage - Platte 2700 mgen
2. Einlage - Stab und Platte 2400 mgen
3. Einlage - Stab 2430 mgen
Telecobalt: Gesamtdosis 4000 R / Parametrium,
Einzeldosis 200 R
20 Sitzungen innerhalb von 29 Tagen

9.) Ha. -

Aufnahmetag: 12. 12. 1963
Entlassungstag: 28. 2. 1964
Alter: 54 Jahre
Diagnose: Collum - Ca III
Histologie: Plattenepithelkarzinom der Portio mit
mittlerer Gewebsreife
Behandlung: Radium
1. Einlage - Trichter 2000 mgen
2. Einlage - Platte und Stab 2200 mgen
Telecobalt Pendelbestrahlung, Gesamtdosis
4000 R / Parametrium, Einzeldosis 200 R
20 Sitzungen innerhalb von 32 Tagen

10.) Kr. - Al.

Aufnahmetag: 2. 12. 1963
Entlassungstag: 25. 1. 1964
Alter: 49 Jahre
Diagnose: Collum - Ca I
Histologie: Plattenepithelkarzinom mittlerer Gewebs-
reife mit deutlicher Epithelfaserung
Behandlung: 1. Wertheim'sche Radikaloperation
2. Radium 1500 mgeh
Telecobalt - konvergierend
Gesamtdosis 4000 R
Einzeldosis 200 R
20 Sitzungen innerhalb von 28 Tagen

11.) La. - El.

Aufnahmetag: 16. 4. 1964
Entlassungstag: 18. 6. 1964
Alter: 63 Jahre
Diagnose: Collum - Ca III
Histologie: Das vorliegende Gewebe ist von einem
anepidermoiden Pflasterzellkarzinom durch-
setzt. Starke Stromareaktion.
Behandlung: Radium
1. Einlage - Stab und Platte 2600 mgeh
2. Einlage - Stab und Platte 1980 mgeh
3. Einlage - Stab und Platte 1200 mgeh
4. Einlage - Stab und Platte 1125 mgeh
Telecobalt: Gesamtdosis 4400 R / Parametrium
Einzeldosis 200 R
22 Sitzungen innerhalb von 37 Tagen

12.) Ba. - Ma.

Aufnahmetag: 2. 6. 1964
Entlassungstag: 18. 8. 1964
Alter: 54 Jahre
Diagnose: Collum - Ca III
Histologie: Ein massiv entwickelter Plattenepithelkarzinom der Portio ohne Verhornung
Behandlung: 1. Einlage - Platte 2400 mgeh
2. Einlage - Stab 2000 mgeh
3. Einlage - Stab 2470 mgeh
Telecobalt: Gesamtdosis 4400 R / Parametrium
Einzeldosis 200 R
22 Sitzungen innerhalb von 2 1/2 Tagen

13.) Je. - Ir.

Aufnahmetag: 8. 6. 1964
Entlassungstag: 1. 8. 1964
Alter: 38 Jahre
Diagnose: Collum - Ca III
Histologie: Plattenepithelkarzinom mit großen Nekrosefeldern, hie und da Pseudodrüsenbildung als Ausdruck der zentralen Gewebse Nekrose.
Behandlung: 1. Einlage - Stab und Kratertrichter
2800 mgeh
2. Einlage - Stab und Platte 2400 mgeh
3. Einlage - Stab und Platte 1800 mgeh
Telecobalt: Gesamtdosis 4600 R
Einzeldosis - 200 R
23 Sitzungen innerhalb von 31 Tagen
Zusätzlich 7 Sitzungen mit einer Gesamtdosis von 1400 R
Gesamtdosis links: 4600 R
rechts: 6000 R

14.) Bl. - Ba.

Aufnahmetag: 16. 6. 1964

Entlassungstag: 18. 8. 1964

Alter: 47 Jahre

Diagnose: Collum - Ca III

Histologie: Zahlreiche kleine Gewebsstücke mit vorwiegend bindegewebigen, gefäßreichen von Leukozyten durchsetzten Stroma. Innerhalb des Stromas kleinere und größere Zellnester und Zellstränge eines Plattenepithelkarzinoms.

Behandlung: Radium

1. Einlage Trichter und Stab 1700 mgeh

2. Einlage - Stab und Platte 2400 mgeh

3. Einlage - Stab und Platte 1800 mgeh

Telecobalt: 4400 R / Parametrium

22 Sitzungen innerhalb von 30 Tagen

Einzeldosis 200 R

15.) Ma. - El.

Aufnahmetag: 12. 11. 1963

Entlassungstag: 25. 1. 1964

Alter: 54 Jahre

Diagnose: Collum - Ca III

Histologie: Ein anepidermoides Pflasterzellkarzinom mit erheblichen zentralen Nekrosen

Behandlung: 1. Einlage - Stab und Platte 2860 mgeh

2. Einlage - Trichter 2200 mgeh

3. Einlage - Stab und Platte 2200 mgeh

Telecobalt: Gesamtdosis 4400 R / Parametrium, Einzeldosis 200 R

22 Sitzungen innerhalb von 34 Tagen

Komplikationen: Abflußverzögerung der rechten Niere, Hydronephrose rechts

t-Test bei paarweiser Anordnung

Thema: 0. bis 1. Bestrahlung (NADPH)

$$1. \quad \sum d \quad 143,3$$

$$2. \quad \bar{d} = \frac{\sum d}{n} \quad 9,55$$

$$3. \quad \sum d^2 \quad 1748,1 \quad n = 15$$

$$4. \quad \frac{(\sum d)^2}{n} \quad 1369,0$$

$$5. \quad S_{dd} = 3-h \quad 379,1$$

$$6. \quad S_d = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}} \quad 1,34$$

$$7. \quad t = \frac{\bar{d}}{S_d} \quad 7,12$$

t-Test bei paarweiser Anordnung

Thema: 0. bis 3. Bestrahlung (NADPH)

1.	$\sum d$	23,7	
2.	$\bar{d} = \frac{\sum d}{n}$	1,58	
3.	$\sum d^2$	244,81	$n = 15$
4.	$\frac{(\sum d)^2}{n}$	37,44	
5.	$S_{dd} = 3-4$	207,4	
6.	$S_{\bar{d}} = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}}$	0,99	
7.	$t = \frac{\bar{d}}{S_{\bar{d}}}$	1,59	

t-Test bei paarweiser Anordnung

Thema: 0. bis 5. Bestrahlung (NADPH)

$$1. \sum d \quad 35,3$$

$$2. \bar{d} = \frac{\sum d}{n} \quad 2,52$$

$$3. \sum d^2 \quad 552,13$$

$$n = 14$$

$$4. \frac{(\sum d)^2}{n} \quad 89,0$$

$$5. S_{dd} = 3-14 \quad 463,1$$

$$6. S_d^- = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}} \quad 1,59$$

$$7. t = \frac{\bar{d}}{S_d^-} \quad 1,58$$

t-Test bei paarweiser Anordnung

Thema: 0. bis 10. Bestrahlung (NADPH)

$$1. \sum d \quad 29,0$$

$$2. \bar{d} = \frac{\sum d}{n} \quad 1,93$$

$$3. \sum d^2 \quad 354,2 \quad n = 15$$

$$4. \frac{(\sum d)^2}{n} \quad 56,1$$

$$5. S_{dd} = 3-4 \quad 298,1$$

$$6. s_d = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}} \quad 1,19$$

$$7. t = \frac{\bar{d}}{s_d} \quad 1,62$$

t-Test bei paarweiser Anordnung

Thema: 0. bis 15. Bestrahlung (NADPH)

$$1. \quad \sum d \quad 9,0$$

$$2. \quad \bar{d} = \frac{\sum d}{n} \quad 0,6$$

$$3. \quad \sum d^2 \quad 486,3 \quad n = 15$$

$$4. \quad \frac{(\sum d)^2}{n} \quad 5,4$$

$$5. \quad S_{dd} = 3-4 \quad 480,9$$

$$6. \quad S_d = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}} \quad 1,51$$

$$7. \quad t = \frac{\bar{d}}{S_d} \quad 0,3$$

t-Test bei paarweiser Anordnung

Thema: 0. bis 20. Bestrahlung (NADPH)

$$1. \sum d \quad 6,4$$

$$2. \bar{d} = \frac{\sum d}{n} \quad 0,43$$

$$3. \sum d^2 \quad 254,6 \quad n = 14$$

$$4. \frac{(\sum d)^2}{n} \quad 2,7$$

$$5. S_{dd} = 3-4 \quad 251,9$$

$$6. S_d = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}} \quad 1,21$$

$$7. t = \frac{\bar{d}}{S_d} \quad 0,3$$

t-Test bei paarweiser Anordnung

Thema: 0. bis 1. Bestrahlung (NADH)

1.	$\sum d$	3,5	
2.	$\bar{d} = \frac{\sum d}{n}$	0,23	
3.	$\sum d^2$	232,61	$\therefore = 15$
4.	$\frac{(\sum d)^2}{n}$	0,81	
5.	$S_{dd} = 3-4$	231,8	
6.	$S_d = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}}$	1,05	
7.	$t = \frac{\bar{d}}{S_d}$	0,21	

t-Test bei paarweiser Anordnung

Thema: 0. bis 3. Bestrahlung (NADH)

$$1. \sum d \quad 20,3$$

$$2. \bar{d} = \frac{\sum d}{n} \quad 1,36$$

$$3. \sum d^2 \quad 215,03 \quad n = 15$$

$$4. \frac{(\sum d)^2}{n} \quad 27,47$$

$$5. S_{dd} = \sum d^2 \quad 187,56$$

$$6. S_d^- = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}} \quad 0,95$$

$$7. t = \frac{\bar{d}}{S_d^-} \quad 1,43$$

t-Test bei paarweiser Anordnung

Thema: 0. bis 5. Bestrahlung (NADH)

$$1. \quad \sum d \quad 21,1$$

$$2. \quad \bar{d} = \frac{\sum d}{n} \quad 1,51$$

$$3. \quad \sum d^2 \quad 171,9 \quad n = 14$$

$$4. \quad \frac{(\sum d)^2}{n} \quad 29,7$$

$$5. \quad S_{dd} = \sum d^2 \quad 142,2$$

$$6. \quad S_d = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}} \quad 0,85$$

$$7. \quad t = \frac{\bar{d}}{S_d} \quad 1,77$$

t-Test bei paarweiser Anordnung

Thema: 0. bis 10. Bestrahlung (NADH)

$$1. \sum d \quad 28,6$$

$$2. \bar{d} = \frac{\sum d}{n} \quad 1,91$$

$$3. \sum d^2 \quad 351,2 \quad n = 15$$

$$4. \frac{(\sum d)^2}{n} \quad 54,5$$

$$5. S_{dd} = 3-4 \quad 296,7$$

$$6. S_d^- = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}} \quad 1,18$$

$$7. t = \frac{\bar{d}}{S_d^-} \quad 1,6$$

t-Test bei paarweiser Anordnung

Thema: 0. bis 15. Bestrahlung (NADH)

$$1. \quad \sum d \quad 33,0$$

$$2. \quad \bar{d} = \frac{\sum d}{n} \quad 2,20$$

$$3. \quad \sum d^2 \quad 426,9 \quad n = 15$$

$$4. \quad \frac{(\sum d)^2}{n} \quad 72,6$$

$$5. \quad S_{dd} = 3-4 \quad 354,3$$

$$6. \quad S_d = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}} \quad 1,30$$

$$7. \quad t = \frac{\bar{d}}{S_d} \quad 1,7$$

t-Test bei paarweiser Anordnung

Thema: 0. bis 20. Bestrahlung (NADH)

1. $\sum d$ 17,2
2. $\bar{d} = \frac{\sum d}{n}$ 1,22
3. $\sum d^2$ 301,5 $n = 14$
4. $\frac{(\sum d)^2}{n}$ 21,1
5. $S_{dd} = 3-4$ 280,4
6. $S_d = \sqrt{\frac{S_{dd}}{n(n-1)}}$ 1,28
7. $t = \frac{\bar{d}}{S_d}$ 0,8

L i t e r a t u r a n g a b e n

- 1) ANKER, M.S.: In the Plasma Protein. Hrsg. von F.W. Putnam. Bd.II, 267, New York u. London (1960)
- 2) ASHWOOD - SMITH, M. J.: The effect of whole body x - irradiation on the glutathione content of rat thymus. Int. J. Rad. Biol. 3, No 2, 125, (1961)
- 3) BACQ, Z.M. and ALEXANDER, P.: Fundamentals of Radiobiology. Pergamon Press Baltimore (1961)
- 4) BERGEDER, H.D.: Grundlagen der biologischen Strahlenwirkung und Strahlenschäden, Erg.allg. Path., 42, 1 (1962)
- 5) BERGMAYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse, Weinheim, Bergstrasse, Verlag Chemie (1962)
- 6) BEUTLER, E. DERN, R.J., FLANAGAN, C.L. and ALVING, A.S.: The hemolytic effect of Primaquine. VII Biochemical Studies. J.Laborat.Clin.Med.S. Louis, 45, 286 (1955)
- 7) BLACK, S. and HUDSON, B.: Flavin and Thio.Groups of Yeast Glutathione Reductase. Bioch. & Biophys. Res. Commun, 2, 135 (1961)
- 8) BOTTERMAN, K.E. SCHNEIDER, L.: Strahlenwirkungen an Mitochondrien. Strahlentherapie 116, 25, (1961)
- 9) BROWNE, E.A.: The Inheritance of an Intrinsic Abnormality of the Red Blood Cell Predisposing to Drug- Induced Hemolytic Anemia. Bull. Hopkins.Hop., 101, 115 (1957)

- 10) CARSON, P.E. FLANAGAN, C.L., ICKES, C.E., ALVING, A.S.:
Enzymatic Deficiency in Primaquine - Sensitive Erythrocytes.
Science 124, 484 (1956)
- 11) CARSON, P.E. BREWER, G.J. and ICKES, C.: Decreased Glutathione
Reductase with Susceptibility to Hemolysis. J. Laborat. Clin.
Med., 58, 804 (1961)
- 12) CARSON, P. SCHRIER, S. and FLANAGAN, C.L.: Use of DPNH as
Coenzyme for Glutathione Reductase of Hemolyzates. Fed. Proc.
16, 19 (1957)
- 13) COHEN, J.A.: Some Aspects of the Effects of Ionizing
Radiation on Cellular Metabolism, VIII int. Congr. Radiol.
1, 141 (1961)
- 14) CONN, E. and VENNESLAND, B.: Glutathione Reductase of Wheat
Germ. Nature (London) 167, 975 (1951)
- 15) CORDES, W.: Experiences with Plasmochin in Malaria
(Preliminary Reports). 15, Annual Report, Unit. Fruit
Company S. 66, (1926)
- 16) CROOK, E.M.: Glutathione, Cambridge. University Press, (1959)
- 17) DERN, R.J., WEINSTEIN, I.M., LE ROY, G.V., TALMAGE, D.W.
ALVING, A.S.: The Hemolytic Effect of Primaquine: I. The
Localisation of the Dug - Induced Hemolytic Defect in
Primaquine - Sensitive Individuals. J. Laborat. Clin. Med.
43, 303 (1954)
- 18) DERN, R.J. BEUTLER, E., ALVING, A.S.: The Hemolytic Effect
of Primaquine: II. The Natural Course of the Hemolytic Anaemie
and the Mechanism of its Self - Limited Character. J. Laborat.
Clin. Med. 44, 171, (1954)

- 19) DERN, R.J., BEUTLER, E., ALVING, A.S.: The Hemolytic Effect of Primaquine: V. Primaquine - Sensivity as a Manufestation of a Multiple Sensitivity. J. Laborat. Clin. Med. 45, 30 (1955)
- 20) ECKHART, W. und WACKER, A.: DNS- Gehalt und UV- Strahlenresistenz von Lb. Leichmanni, Z. Naturforschung, 15 b, 429, (1960)
- 21) ENGELHARDT, V.A. and BARCHARCH, A.P.: The oxydative of phosphogluconic acid. Biochimiya (Moskwa) 3, 500. (1965)
- 22) ENGELHARD, H.: Grundvorgänge der Strahlenwirkung im biologischen System. Strahlentherapie, 111, 371, (1960)
- 23) EULER, H.v. und HAHN, L.: Influence of roentgen rays on isolated Cell Nuclei. Acta radiol., Stockholm 27, 269 (1946)
- 24) EULER, H.v. and HEVESY, G.v.: Wirkung der Rontgenstrahlen auf den Umsatz der Nucleinsäure im Jensen - Sarkom. Ark. Kemi Mineral. Geol. 17 A, 1 (1943/44)
- 25) FRANCOEUR, M. and DENSTEDT, O.F.: Metabolism of mammalian Erythrocytes. VII. The Glutathione Reductase of the mammalian Erythrocyte. Canad. J. Biochem. & Physio. 32, 663 (1954)
- 26) FRITZ - NIGGLI, H.: Von der Strahlenabsorption zum biologischen Geschehen, Hippokrates, 34, 2 (1963)
- 27) GANAPATHY, C.V.: Redox Systems in the Latex of Carica papaya. Current Science 16, 451 (1938)
- 28) GLAUSER, O.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Rattenlebern nach Roentgen - Bestrahlung. Schweiz, Zschr. Path. 19, 150, (1956)

- 29) GOMORI, G. in S.P. COLOWICK and N.O. KAPLAN (Editor):
Methods in Enzymology, Vol.I. Academic Press, Inc.,
New York, (1955) p. 138
- 30) HAGEN, U.: Über die unterschiedliche Strahlenempfindlichkeiten von Enzymen an verschiedenen Orten der Zelle.
Naturwissenschaften 44, 402 (1957)
- 31) HAGEN, U.: Aktivität zellulärer Endopeptidasen (Kathepepsine) im strahlengeschädigten Organismus. Z. Naturforschung. 12 b, 546, (1957)
- 32) HAGEN, U.: Radiosensitivity of Desoxyribonucleic Acid Synthesis in Regenerating Liver. Rad. Res. 2, Ref. Nr. 105, 125 (1958)
- 33) HANDLER, P.: Biochemical Considerations of Relationship between Effects of Time of Radiation on living Systems, Fed. Proc. 20, Nr. 2, 8 (1961)
- 34) HESS, B.: Enzyme im Blutplasma, Georg Thieme-Verlag Stuttgart (1962)
- 35) HOPKINS, F.G. and MORGAN, E.J.: The Influence of the Thiol-Groups in the Activity of Dehydrogenases, Nature (London) 152, 288, (1943)
- 36) HORN, H.D. and Amelung, D.: Die Bedeutungen von Transaminasen und Milchsäure Dehydrogenasen Bestimmungen - im Serum bei Lebererkrankungen. Deutsch. Med. Wschr. 82, 619 (1957)
- 37) HORN, H.D.: Glutathionreduktase. In H.U. BERGMAYER, Methoden der enzymatischen Analyse S. 875 bis 879. Weinheim, Bergstrasse: Verlag Chemie (1962)

- 38) HORN, H.D. und BRUNS, F.H.: DPNH und TPNH Glutathionreduktase im Serum des Menschen, Biochem. Zschr. 331, 58 (1958)
- 39) HORN, H.D., MAINZER, K. und LANGEMANN, D.: Über die Glutathionreduktase im Serum des Menschen. Ein Beitrag zur Differentialdiagnose der Lebererkrankungen, Klin. Wschr. 19, 985 (1962)
- 40) HOCKWALD, R.S., ARNOLD, J., CLAYMAN, C.E. und ALVING, A.S.: Status of Primaquine: Toxicity of Primaquine in Negroes, J. Amer. Med. Ass. 149, 1568, (1952)
- 41) HUG, O.: Fortschritte der Strahlenbiologie, Gersbach und Sohn - Verlag, München (1963)
- 42) JACOBS, H.S. and JANDL, J.H.: Effect of Sulfydryl in Inhabitation on Red Blood Cells. II Studies in vivo. J. Clin. Invest 41, 1514 (1962)
- 43) JÜNGLING, O.v. und LANGENDORFF, H.: Über die Wirkung verschieden hoher Röntgendosen auf den Kernteilungsablauf bei *Vicia faba equina*. Strahlentherapie. 38, 1, (1930)
- 44) KALK, H.E., SCHMIDT, F.W. und E. WILDHIRT: Zur Beteiligung der Leber bei der infektiösen Mononucleose (Ferment- Aktivitäts- Bestimmungen in der menschlichen Leber VIII). Klin. Wschr. 38, (1960), **421**
- 45) KELBY, L.S.: DNA - Synthesis in irradiated animals, II Un. Intern. Conf. Peaceful Uses of Atomic Energy, Bericht 15, 1886 (1958)
- 46) KOHMANN, E.F. und SANDBORN, N.H. Industr.Engng. Chem. 29, 189, 1195, (1937). Dehydroascorbic Acid Reduktase und 1195-1199: Vegetal Reduktion of Dehydroascorbic Acid.

- 47) KOLLER, S. Statistische Auswertungsmethoden in H.M. Rauen, Biochemisches Taschenbuch, 1184, Berlin, Göttingen, Heidelberg, Springer - Verlag (1956)
- 48) KRIMSKY, J. und RACKER, E.: Glutathion A Prosthetic Group of Glyceraldehyde - 3 - Phosphate Dehydrogenase. J. Biol. Chem. 198, 721 (1952)
- 49) LANGENDORF, H.: Über strahlenbedingte Störungen im Zellstoffwechsel. Hippokrates. 34, 9 (1963)
- 50) LANGENDORF, H. MELCHING, H.J. und STREFFER, Chr.: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz, Strahlentherapie, 116, 525, (1961)
- 51) LANGDON, R.G.: Properties and mechanism of Action of purified Glutathione Reductase. Biochim biophysica acta N.Y. 30, 432, (1958)
- 52) LAJTHA, L.G.: Radiations Effects on Nuclei Acid Metabolism Chargraff - Davidson, the "Nuclei Acid". Academic Press, New York, London, 3. 257 (1960)
- 53) LEA, D.E.: Actions of Radiations on Living Cells. Cambridge. University Press, (1955)
- 54) LÖHR, G.W. and WALLER, H.D.: Eine neue enzymopenische Hämolytische Anämie mit Glutathionreduktase - Mangel. Med. Clin. 57, 1521 (1962)
- 55) LOUITT, J.F. Biological Effects of Radiation, Nature (London), 182, 1118, (1958)

- 56) MAASS, H., HÖHNE, G. KUNKEL, H.A. und RATHGEN, G.H.: Stationäre Zwischenstoffkonzentrationen in bestrahlten und unbestrahlten glykolysierenden Yoshida - Ascites - Sarkomzellen. Klin. Wschr., 34, 1095, (1956)
- 57) MAASS, H., RATHGEN, G.H.: Untersuchungen über den Einfluß von Röntgenstrahlungen auf den Kohlenhydratstoffwechsel von Tumorzellen. Strahlentherapie. 103, 668, (1957)
- 58) MAASS, H., RATHGEN, G.H., KUNKEL, H.A., SCHUBERT, G.: Versuche zur Deutung der strahleninduzierten Glykolysehemmung in Yoshida - Ascites - Tumorzellen. Z. Naturforschung 13 b, 735, (1958)
- 59) MAASS, H., HÖHNE, G., KUNKEL, H.A.: Das Verhalten von Enzymen des Kohlenhydratstoffwechsels nach Röntgenbestrahlung. Strahlentherapie 35, 171, (1956)
- 60) MAASS, H., HÖHNE, G. und KUNKEL, H.A.: Über die Strahlenempfindlichkeit von Enzymen der Rattenleber. Z. Naturforschung 11 b, 593, (1956)
- 61) MANN, P.J.G.: The Reduction of Glutathione by a Liver System, Biochem. J., 26, 785, (1962)
- 62) MANSO, C. and WOBLEWSKI, F.: Glutathione reductase activity in Blood and Body Fluids. J. Clin. Invest. 32, 214, (1958)
- 63) MAPSON, L.W. und GODDARD, D.R.: Reduction of Glutathione by plant tissues. Biochem. J. 49, 592, (1962)
- 64) MAPSON, L.W. and MOUSTAFA, E.M.: Ascorbic Acid and Glutathione as Respiratory Carriers in the Respiration of Pea Seedlings. Biochem. J., 62, 248. (1956)

- 65) MAURER, H.J.: Beitrag zur biologischen und biochemischen Wirkung ionisierender Strahlungen, Strahlentherapie. 107, 42, (1958)
- 66) MAZIA, D.: SH - and Growth in: Glutathione, Edit. S. Colowick New York 1954 P. 209
- 67) MELDRUM, N. and TARR, H.: The Reduction of Glutathione by the Warburg --Christian System, Biochem. J. 29, 108, (1935)
- 68) MIZE, C.E. and LANGDON, R.G.J.: Hepatic Glutathione Reductase. J. Biol. Chem., 237, 1589, (1962)
- 69) PETERSON, D., BEATTY, H. and WEST, S.: Effect of total Body X-Irradiation on Glutathione Levels in Rats. Proc. S.E.B.M. 77, 747, (1950)
- 70) PIRIE, NW. and PINHEY, K.G.: The Titration curve of Glutathione J. Biol. Chem. S. 321 - 333, (1929)
- 71) RACKER, E.: Glutathione Reductase from Baker's Yeast and Beef Liver. J. Biol. Chem., 217, 855, (1955)
- 72) RAJEWSKY, B. Untersuchungen über das Grundproblem der Strahlenwirkung II Physikalische Darstellung des Schädigungsvorganges und Experimentelle Prüfung. 10 Jahre Forschung auf dem physikalisch-medizinischen Grenzgebiet. Leipzig, Georg Thieme (1931)
- 73) RAJEWSKY, B., GERBER, G. und PAULY, H.: Zur Hemmung des Glykosestoffwechsels von Escherichia coli durch Röntgenstrahlen. Naturwiss. 43, 228, (1956)

- 74) RALL, T.W. and LEHNINGER, A.L.: Glutathione Reductase of animal Tissues. J. Biol. Chem., 194, 119, (1952)
- 75) RAPKINE, L.: Sur les processus chimiques au cours de la division cellulaire. Ann. physiol. physicochim. biol. (Paris) 7, 382, (1931)
- 76) RATHGEN, H.G.: Biochemische Untersuchungen zur Wirkung ionisierender Strahlen und radiomimetischer Substanzen auf die Zelle. Habilitationsschrift (1963)
- 77) RATHGEN, H.G. und MAASS, H.: Die Strahlenschädigung des DPN - Stoffwechsels in der Tumorzelle, Strahlentherapie, 106, 266, (1958)
- 78) RATHGEN, G.H., HÖHNE, G., KUNKEL, A.H. und MAASS, H.: Die strahleninduzierten Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels von Yoshida - Ascites - Sarkomzellen. Klin. Wschr. 34, 1094, (1956)
- 79) RATHGEN, G.H. und MAASS, H.: Untersuchungen zur strahleninduzierten Glykosehemmung in Yoshida - Ascites - Sarkomzellen. Naturwiss. 44, 237, (1957)
- 80) RATHGEN, G.H. und MAASS, H.: Untersuchungen zur strahleninduzierten Glykolysehemmung. Enzymaktivitäten in bestrahlten Yoshida - Ascites - Sarkomzellen. Naturwiss. 45, 393, (1958)
- 81) REICH, Th.: Idee und Praxis der medizinischen Statistik. Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart. (1946)
- 82) REY, PAILHADE, de J.M.: Sur un Corps D'origine Organique Hydrogérant le Soufre à froid, C.R. Acad. Sci., Paris, 106, 1683, (1888)

- 83) SASS, KORTSAC, A., THALME, B. and ERNSTER, L.: Discussion of hemolytic activity of vitamin K, evidence for direct effect on cellular enzymes. *Nature* (London), 193, 480, (1962)
- 84) SCHMIDT, W.: Anlage und statistische Auswertung von Untersuchungen. Shapper (Hannover), (1961)
- 85) SÜDHOF, H. und Wötzel, E.: Über die Haltbarkeit von zur Enzymaktivitätsbestimmung vorgesehenen Serumproben. *Klin. Wschr.* 38, 1165 (1960)
- 86) TARLOH, Ar., BREWER, G.J., CARSON, P.E., ALVING, A.S.: Primasquine Sensitivity. *Arch. intern. Med.* 109, 209, (1962)
- 87) TRAGER, W., Mc GHEE, R.B.: Factors in Plasma concerned in Natural resistance to an avian malaria parasite (*Plasmodium lophurae*). *J. Eyp. Med. Sci.* 91, 365, (1950)
- 88) TURCHETTE, A. zit. nach LÖHR, G.W. und WALLER, H.D.: Biochemie und Pathogenese der enzymopenischen hämolytischen Anämien, *Dtsch. med. Wschr.*, 86, 27 und 87 und 91 (1961)
- 89) VENNESLAND, B. and CONN, E.E.: Glutathione (proceedings of a Symposium held at Ridgefield, Connecticut), 1953 : Academic Press Inc. New York, 105, (1954)
- 90) WALLER, H.D. und GEROK, W.: Schwere strahleninduzierte Haemolyse bei hereditären Mangel an reduziertem Glutathion in Blutzellen. *Klin. Wschr.* 42, 948, (1964)
- 91) WERUZE, H., BRAUN, H. und KOCH, W.: Reduziertes Glutathion in Erythrozyten und verschiedenen Rattenorganen nach Röntgen - Ganzkörperbestrahlung. *Strahlentherapie* 126, 2, 291, (1965)

- 92) WOLFARTH - BOTTERMANN, K.E. und SCHNEIDER, L.: Strahlenwirkungen an Mitochondrien. Strahlentherapie, 116, 25, (1961)
- 93) YOUNG, L.C.T. and CONN, E.E.: Zit. nach MAPSON, L.W.: Enzymes systems associated with the oxidation and reduction of glutathione in plant tissues. In CROOK, E.M., Glutathione. Biochemical Society Symposia 17, 28, Camoridge University Press (1959)
- 94) ZICHA, B. - DIENSTBIER, Z. - BOROVA, J. - BENES, J. und NEUWIRT, J.: Die Dynamik des durch die Glutathionreduktase katalysierten GSH - Redox - Zustandes in der Leber bestrahlter Ratten. Strahlentherapie, 126, 2, 299 (1965)

L e b e n s l a u f

Am 30. 4. 1940 wurde ich, Klaus Pieper, in Stettin als Sohn des damaligen Regierungsassessors Hans Günter Pieper und seiner Ehefrau Edith Pieper geborene Bröer geboren.

Infolge der Kriegssereignisse verließen meine Eltern 1945 Stettin und zogen zu meinen Großeltern nach Berlin. Dort besuchte ich bis 1948 die Volksschule in Zehlendorf. Im selben Jahr wechselten meine Eltern aus beruflichen Gründen ihren Wohnsitz. Zunächst zogen sie nach Bad Schwalbach und 1949 nach Wiesbaden. Hier kam ich nach Ablauf der 4. Volksschulklasse der Schumann-Schule im April 1951 auf das Realgymnasium am Zietenring. 1957 verließ ich das Realgymnasium und besuchte bis zur Reifeprüfung im April 1960 das Rheingaugymnasium in Geisenheim. Während dieser letzten drei Jahre wohnte ich bei meinen Großeltern im Rheingau.

Vom Sommersemester 1961 bis Ende des Sommersemesters 1963 studierte ich dann in Mainz Medizin. Während dieser Zeit legte ich mein Vorphysikum und Physikum ab. Im Wintersemester 1963/1964 studierte ich in Berlin und vom Sommersemester 1964 ab wiederum in Mainz.

